



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE MÉXICO

CAMPUS CHAPULTEPEC

**ESCUELA DE QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
INCORPORADA A UNAM**

**“ESTUDIO COMPARATIVO DE PERFIL DE DISOLUCIÓN DE
TABLETAS QUE CONTIENEN COMO PRINCIPIO ACTIVO
METFORMINA”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P r e s e n t a:
ENEIDA NANCY GONZALEZ BOTELLO

Director de tesis: Q.F.B. Osvelia Gutiérrez Herrera.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Q.F.B. Osvelia Gutiérrez Herrera

VOCAL: Q.F.B. Santiago Salazar López

SECRETARIO: Q.F.B. Esperanza Hernández Koelig

PRIMER SUPLENTE: Q.F.B. Benjamín Fernández Fernández

SEGUNDO SUPLENTE: M. Isidro Hinojosa López

DIRECTOR DE TESIS

Q.F.B. OSVELIA GUTIERREZ HERRERA

SUSTENTANTE

ENEIDA NANCY GONZALEZ BOTELLO

A Mis Padres:

A ti papito y mamita les doy gracias por haberme inculcado valores que me han ayudado a lograr muchas metas en mi vida, y que han sido parte de mi formación para nunca dejarme caer durante los momentos más difíciles de mi vida, les agradezco su confianza, su amor y su apoyo incondicional los quiero mucho.

A ti piqui y mi pollo:

Saben, le doy gracias a Dios por haberme permitido que ustedes llegaran en el mejor momento de mi vida, los amo, y sobre todo por ese gran apoyo de hija, de esposo y de amigos, que me han brindado durante el tiempo que hemos pasado juntos. Son parte para que yo siga adelante.

A Ray, Judith y pacho:

Gracias por el apoyo que me han brindado durante las etapas difíciles de mi vida, recuerden que siempre estaré con ustedes.

A chato:

Recuerda que la vida se vive una vez y durante la tuya me has brindado tu apoyo te quiero mucho.

Miss Osve:

Que le puedo decir, si usted sabe que una gran parte de mi formación tanto académica como profesional, se la debo a usted. No tengo con que agradecerle lo que usted ha hecho por mí.

A mis amigos:

Blanca, Issel, Rosi, Miriam, Judith, Chato, Ray, Marina, Elodia, Roman, Beatriz, Roman, Alfredo, Jazmín, Javier, Nelia, Luci, Chava, Gaby, Olivia, Oscar, Mariana, Maru, Chavis, Tania, Paty, Sara, Belem, José, Irma, Sandra, Graciela, Manuela, Nancy, Mama de Nancy, Ana, Lety, Rigo, Rene, Espantos, Ivonn, Sabina, Magdaleno, Mi abue, Teresa, Martha, Lety, Samuel, Aurora, Samuelito, Yesica y a todos etc. Gracias por su apoyo y por compartir los momentos más agradables durante todas las etapas de mi vida.

1. INTRODUCCIÓN	1
2. GENERALIDADES	2
2.1. Disolución	2
2.1.1. Condiciones para las pruebas de disolución	3
2.1.2. Aparatos	3
2.1.2.1. Existen varios tipos de aparatos para realizar la prueba de disolución	4
2.1.2.2. Descripción de los aparatos más utilizados	5
2.1.2.2.1. Aparato 1 (canastillas)	5
2.1.2.2.2. Aparato 2 (paletas)	5
2.1.3. Medio de disolución	6
2.1.3.1. Efectos de parámetros de prueba sobre el medio de disolución	7
2.1.3.1.1. Ph del medio de disolución	7
2.1.3.1.2. Tensión superficial del medio de disolución	7
2.1.3.1.3. Viscosidad del medio de disolución	8
2.1.4. Agitación	8
2.1.5. Temperatura	9
2.2. Calibración del equipo de disolución	9
2.3. Tiempo de disolución e interpretación de resultados	11
2.4. Especificaciones para la prueba de disolución	13
2.5. Ventajas de la automatización en las pruebas de disolución	14
2.6. Perfil de disolución	15
2.6.1. Criterios y requisitos generales para las pruebas	15
2.6.2. Criterios y requisitos para la evaluación de perfiles de disolución	16
2.6.3. Factores adicionales para llevar a cabo el perfil de disolución	17
2.6.4. Comparación de los perfiles de disolución	17
2.6.5. Evaluación y reporte de los perfiles de disolución	18
2.7. Validación del método analítico	19
2.7.1. Parámetros de validación del sistema	19
2.7.2. Parámetros de validación del método	19
2.8. Monografía de metformina clorhidrato	21
2.8.1. Farmacocinética y farmacodinamia	23
2.8.2. Contraindicaciones	24
2.8.3. Precauciones generales	24
2.8.4. Reacciones secundarias y adversas	24
2.8.5. Interacciones medicamentosas y de otro género	24
2.8.6. Disponibilidad en el cuerpo	25
2.8.7. Concentración terapéutica	25
2.8.8. Toxicidad	25
3. OBJETIVOS	26
3.1. Objetivo general	26
3.2. Objetivos particulares	26
4. PARTE EXPERIMENTAL	27
4.1. Reactivos	27
4.2. Equipos y materiales	27
4.3. Selección de medicamentos	28
4.4. Pruebas de control de calidad	28
4.4.1. Prueba de identidad	29
4.4.2. Valoración	29
4.4.3. Uniformidad de dosis	30
4.5. Validación del método analítico para la disolución	32

4.5.1. Condiciones experimentales para la disolución	32
4.5.2. Parámetros para la validación	33
4.5.3. Validación del sistema	33
4.5.3.1. Longitud de onda máxima	33
4.5.3.2. Linealidad del sistema	33
4.5.3.3. Precisión del sistema	35
4.5.4. Validación del método	35
4.5.4.1. Evaluación de filtros	35
4.5.4.2. Linealidad del método	36
4.5.4.3. Exactitud	38
4.5.4.4. Repetibilidad	39
4.5.4.5. Reproducibilidad	39
4.5.4.6. Estabilidad de la solución estándar	39
4.6. Perfil de disolución	42
5. RESULTADOS	43
5.1. Resumen de resultados de la disolución	43
5.2. Resultados de las pruebas de control de calidad	44
5.2.1. Identidad	44
5.2.2. Valoración	46
5.2.3. uniformidad de dosis	46
5.3. Resultados de la validación del método analítico de disolución de clorhidrato de metformina	47
5.3.1. Validación del sistema	47
5.3.1.1. Linealidad	47
5.3.1.2. Precisión	48
5.3.2. Validación del método	49
5.3.2.1. Efecto del filtro	49
5.3.2.2. Linealidad del método	49
5.3.2.3. Exactitud y precisión del método	53
5.3.2.4. Reproducibilidad	53
5.3.2.5. Estabilidad	54
5.4. Resultados de los perfiles de disolución	54
5.4.1. Perfil de disolución de todos los lotes en prueba	55
5.4.2. Factor de similitud	57
6. ANALISIS DE RESULTADOS	58
6.1. De control de calidad	58
6.2. Validación del método analítico	59
6.2.1. Validación del sistema	59
6.2.1.1. Linealidad y precisión del método	59
6.2.2. Validación del método	59
6.2.2.1. Efecto del filtro	59
6.2.2.2. Linealidad del método	59
6.2.2.3. Exactitud y precisión del método	59
6.2.2.4. Reproducibilidad	60
6.2.2.5. Estabilidad del estándar	60
6.3. Perfiles de disolución	60
6.3.1. Similitud entre los innovadores	61
6.3.2. Factor de similitud para los lotes en prueba	62
7. CONCLUSIÓN	63
8. BIBLIOGRAFIA	64

Índice de figuras

Figura 1. Efecto de la temperatura sobre la velocidad de disolución y desintegración del comprimido	9
Figura 2. Disolutor automático	14
Figura 3. Formula desarrollada de Metformina, clorhidrato	21
Figura 4. Espectro de Metformina en Metanol	22
Figura 5. Espectro de la sustancia de referencia de clorhidrato de Metformina	44
Figura 6. Espectro del producto A	44
Figura 7. Espectro del producto B	44
Figura 8. Espectro del producto C	45
Figura 9. Espectro del producto D	45
Figura 10. Espectro del producto E	45
Figura 11. Curva de linealidad del sistema	47
Figura 12. Linealidad del método analítico del producto A	50
Figura 13. Linealidad del método analítico del producto B	51
Figura 14. Linealidad del método analítico del producto C	51
Figura 15. Linealidad del método analítico del producto D	52
Figura 16. Linealidad del método analítico del producto E	52
Figura 17. perfiles de disolución de los productos en estudio (LOTE 1)	55
Figura 18. perfiles de disolución de los productos en estudio (LOTE 2)	56
Figura 19. Perfil de disolución de Innovadores	61

Índice de tablas

Tabla 1. Especificaciones Mecánicas	10
Tabla 2. Especificaciones de dimensiones	10
Tabla 3. Condiciones para las tabletas USP de Prednisona	11
Tabla 4. Condiciones para las tabletas USP de ac. Salicílico	11
Tabla 5. Criterios de aceptación para la disolución	12
Tabla 6. Productos que contienen como principio activo clorhidrato de Metformina	28
Tabla 7. Condiciones experimentales para la disolución	32
Tabla 8. Diluciones para la curva del estándar de clorhidrato de Metformina	34
Tabla 9. Diluciones para la curva de la muestra	37
Tabla 10. Diluciones para la curva del estándar adicionado	38
Tabla 11. Condiciones de estabilidad	40
Tabla 12. Resultados de la Validación	43
Tabla 13. Resultados de valoración	46
Tabla 14. Resultados de uniformidad de dosis	46
Tabla 15. Resultados de la linealidad del sistema	47
Tabla 16. Resultados de precisión (C.V. del factor respuesta)	48
Tabla 17. Efecto del filtro	49
Tabla 18. Resultados de linealidad del método sin estándar adicionado	49
Tabla 19. Resultados de linealidad del método con estándar adicionado	50
Tabla 20. Resultados de exactitud y precisión del método	53
Tabla 21. Resultados de las diluciones en diferentes días	53
Tabla 22. Resultados de la estabilidad de la solución estándar	54
Tabla 23. % disuelto contra tiempo de los productos en estudio	54
Tabla 24. Valores del factor de similitud	57
Tabla 25. Factor de similitud entre innovadores	61

Índice de gráficas

Gráfica 1. % de la valoración de todos los lotes	58
Gráfica 2. % de la uniformidad de dosis de todos los lotes	58
Gráfica 3. % de la disolución de todos los lotes	60

1. INTRODUCCIÓN

Medicamentos genéricos

Debido al aumento creciente del gasto en salud y sobre todo del gasto en medicamentos, ha llevado a que muchos países adopten nuevas políticas farmacéuticas. Una de las estrategias que han adoptado la gran mayoría de países Latinoamericanos es la promoción del uso de medicamentos genéricos, y en México hay medicamentos innovadores, genéricos intercambiables y medicamentos similares.

Por lo tanto la Secretaría de Salud (SSA) es la encargada de certificar que un medicamento es genérico intercambiable cuando contienen el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que utiliza la misma vía de administración y con especificaciones farmacopéicas iguales o comparables, que después de cumplir con las pruebas reglamentarias requeridas, ha comprobado que sus perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otros parámetros, según sea el caso, son equivalentes a las del medicamento innovador o producto de referencia, y que se encuentra registrado en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, y se identifica con su denominación genérica. ⁽¹⁾

Sobre la base de la legislación sanitaria actual, los medicamentos que se comercializan en nuestro país, tanto en el sector privado como en el sector salud, deben cumplir con los requisitos necesarios de calidad, seguridad y eficacia.

Por lo tanto este trabajo se basó en realizar un estudio de medicamentos que contienen como principio activo clorhidrato de metformina, utilizados para el control de diabetes mellitus tipo 2 (diabetes no insulino dependientes).

Se analizaron medicamentos innovadores y genéricos, tomando como base la NOM-177-SSA1-1998, "Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realizan las pruebas"; así como las Farmacopeas Mexicana, Europea, Británica y Estadounidense. Para evaluar la calidad de los productos, se realizaron pruebas fisicoquímicas, uniformidad de dosis, valoración del principio activo, evaluación del perfil de disolución de cada producto ya que esta prueba permite determinar si existe similitud entre el producto innovador y el producto prueba así como para evaluar las propiedades de las formulaciones, comparar las formulaciones de referencia con otras formulaciones de estudio, y cuando exista una correlación adecuada entre los parámetros de disolución in Vitro y la biodisponibilidad, predecir el comportamiento in vivo.

2. GENERALIDADES

2.1. DISOLUCIÓN

El proceso de absorción de un fármaco contenido en una forma farmacéutica sólida, después de la administración oral depende, en 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 la disolución in vitro puede ser una predicción del comportamiento in vivo, siempre y cuando el paso limitante para la absorción sea la disolución.⁽²⁾

Los datos de disolución sobre la base de una prueba discriminatoria y bien desarrollada tienen un enorme valor en la selección de la formulación apropiada. La prueba de disolución también puede servir como un mecanismo de control de rutina para asegurar la uniformidad de lotes de producción regulares.⁽³⁾

El valor de la disolución como herramienta de control de calidad para predecir el rendimiento in vivo de un producto medicinal mejora significativamente si se establece una relación (correlación o asociación) in vitro-in vivo. La prueba in vitro sirve como herramienta para distinguir entre productos medicinales aceptables e inaceptables. Los productos aceptables son bioequivalentes, en términos del rendimiento in vivo, mientras que los productos inaceptables no lo son. Con mucha frecuencia, se encuentra que la prueba de disolución in vitro es más sensible y discriminatoria que la prueba in vivo. Desde el punto de vista de la seguridad cualitativa, se prefiere un método de disolución más discriminatorio, porque la prueba indicará posibles cambios en la calidad del producto antes de que sea afectado el rendimiento in vivo.⁽⁴⁾

Las pruebas de disolución farmacopeicas son pruebas límite puntuales, (punto único) cantidad del principio activo disuelto en un tiempo determinado y el criterio de aceptación es útil para el control de calidad del medicamento, pero no proporciona la velocidad a la cual el medicamento se disuelve.

Las pruebas de disolución también pueden usarse como una prueba para predecir la biodisponibilidad de un fármaco contenido en un medicamento en humanos.⁽²⁾

2.1.1. Condiciones para las pruebas de disolución

La prueba de disolución se requiere para todas las formas farmacéuticas orales sólidas de la farmacopea en las que sea necesaria la absorción del medicamento para que el producto ejerza el efecto terapéutico deseado. Son excepciones las tabletas que cumplan el requisito de totalidad de la disolución o desintegración rápida (10 a 15 minutos) de medicamentos solubles o marcados radiactivamente. El aparato y el procedimiento se ajustan a los requisitos y las especificaciones de acuerdo al medicamento. En general los experimentos se llevan a cabo a 37°C. ⁽⁵⁾

2.1.2. Aparatos

Una de las primeras decisiones que debe tomarse en el proceso del desarrollo de un nuevo método de disolución es la elección del aparato por lo cual la elección del aparato se debe basar en el conocimiento de la composición de la formulación y el comportamiento real de la forma farmacéutica del sistema de prueba in vitro. ^{(3) (5)}

Los aparatos difieren en cuanto a la forma y la geometría del recipiente de disolución, el tipo y la intensidad de la agitación, la posición del preparado, la dispersión de las partículas, el volumen del medio de disolución, la capacidad de cambiar el solvente con una cierta velocidad para mantener las condiciones de sumidero y la reproducibilidad del sistema.

En la decisión en cuanto a qué aparato va ser usado para la prueba debe enfatizarse a que sus características deben permitir un mecanismo conveniente y reproducible para la introducción de la formulación en una posición fija en el medio de disolución con la mínima alteración hidrodinámica.

El aparato de disolución también debe permitir el mantenimiento de condiciones de sumidero por medio de la posibilidad del continuo intercambio del líquido de disolución con solvente fresco. El aparato debe servir para la prueba de diversos tipos de preparados con una técnica de muestreo conveniente y reproducible que dé como resultado la mínima alteración del lecho de disolución de la formulación o de la condición hidrodinámica del medio de disolución. Son preferibles los mecanismos de filtración automáticos que se insertan en el líquido de disolución, ya que evitan la remoción de polvo del fármaco insoluble. Deben usarse métodos analíticos simples y rápidos ya que muchos fármacos tienden a degradarse con rapidez en soluciones acuosas. ⁽³⁾

2.1.2.1. Existen varios tipos de aparatos para realizar la prueba de disolución

Aparato 1: Canastillas o cesta

Aparato 2: Paletas

Aparato 3: Cilindros oscilantes

Aparato 4: Celda de flujo continuo

Aparato 5: Paletas sobre disco

Aparato 6: Cilindros rotatorio

Aparato 7: Porta-muestra oscilante o alternante⁽²⁾

Los métodos de prueba de disolución utilizados más comúnmente son (1) el método de cesta (Aparato 1) y (2) el método de paleta (Aparato 2)⁽⁶⁾. Los métodos de cesta y paleta son sencillos, robustos, están bien normalizados y se utilizan en todo el mundo. Estos métodos son lo suficientemente flexibles como para permitir la realización de pruebas de disolución para una variedad de productos medicinales.⁽⁴⁾

El aparato 2 generalmente se prefiere para tabletas. El aparato 1 generalmente se prefiere para cápsulas y formas farmacéuticas que tienden a flotar o que se desintegran lentamente. Se puede usar un dispositivo de sumersión, como ejemplo algunas vueltas de alambre de platino, para evitar que la cápsula flote. Hay otros tipos de dispositivo de sumersión disponibles en el comercio que cubren una mínima parte de la superficie de la forma farmacéutica. Cuando se emplea un dispositivo de sumersión, es responsabilidad del analista asegurar que el dispositivo utilizado no modifica las características de disolución de la forma farmacéutica.⁽⁵⁾

En caso de que el Aparato 1 y Aparato 2, no sean satisfactorios, se puede considerar en los procedimientos de disolución in vitro, como el cilindro oscilante (Aparato 3) y un sistema celular de flujo continuo (Aparato 4) descritos en la USP. Se deberá considerar estas metodologías u otras alternativas/modificaciones en base a su superioridad probada para un producto en particular. Debido a la diversidad de variables biológicas y de formulación, y la naturaleza evolutiva del conocimiento en esta área, tal vez haga falta realizar diversas modificaciones experimentales para obtener una correlación in vivo apropiada con los datos de liberación in vitro. Por lo general se puede utilizar las metodologías y los aparatos de disolución descritos en la USP con muestreos manuales o procedimientos automatizados⁽⁴⁾.

2.1.2.2. Descripción de los aparatos más utilizados

2.1.2.2.1. Aparato 1 (Canastilla o cesta)

Consta de un vaso cilíndrico de vidrio o de cualquier otro material inerte y transparente, de fondo esférico de 160 mm a 175 mm de alto de 98 mm a 106 mm de diámetro interno, con capacidad para 1000 mL, con una tapa que debe de estar ajustada para retardar la evaporación y que permita la inserción de un termómetro, así como la toma de la muestra. El vaso firmemente ajustado, debe de estar parcialmente sumergido en un baño de agua, que tenga un ligero movimiento constante y que mantenga la temperatura del medio de disolución a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Es conveniente que el aparato permita la observación de la muestra. El eje transmisor mide 6.3 mm a 6.5 mm o de 9.4 mm a 10.1 mm de diámetro debe ser acero inoxidable tipo 316 y girar suavemente sin bamboleo. Debe de estar colocado en el centro del vaso, de tal manera que no quede a más de 2 mm de cualquier punto del eje vertical del vaso. El regulador de velocidad de rotación, debe mantener la velocidad constante de acuerdo a lo indicado para cada producto y con una variación de ± 4 por ciento. La canastilla consta de dos partes: la parte superior esta unida al eje transmisor del movimiento y es de acero inoxidable tipo 316 con un orificio de 2 mm de diámetro : se ajusta a la parte inferior por medio de tres grapas para permitir que se coloque la muestra en el interior de la canastilla y la sostenga firmemente, para que gire de forma concéntrica al eje del vaso durante la rotación; generalmente es de acero inoxidable tipo 316, soldado formando un cilindro de 36.8 mm ± 3 mm de alto por 22.2 mm ± 1 mm de diámetro externo, con un borde angosto de hoja de metal alrededor de la tapa, de 5.1 mm ± 0.5 mm de ancho generalmente de malla No. 40. La distancia entre el fondo del vaso y la canastilla debe mantenerse constante a 25 mm ± 2 mm durante la prueba.

2.1.2.2.2. Aparato 2 (paletas)

El vaso, el baño, el regulador de velocidad y el eje de transmisor siguen las mismas especificaciones que el aparato 1, excepto que el diámetro del eje transmisor debe ser de 9.4 mm a 10.1 mm. La hélice agitadora es una paleta de 4 mm ± 1 mm de espesor y de 19 mm ± 0.5 mm de alto en forma de sección de un círculo de radio de 41.5 mm ± 1 mm y de cuerdas paralelas subtendidas de 42 mm ± 1 mm y de 74 mm a 75 mm, quedando la sección más pequeña hacia abajo. La distancia de la base de la paleta al centro del círculo imaginario es de 35.8 mm ± 1 mm. La línea central de la cuchilla pasa a través de diámetro del mango de modo que la sección de 42 mm de la misma quede perpendicular al eje transmisor al final del mango, formando una unidad que pueda estar recubierta con un polímero de fluorocarbono o de cualquier otro material inerte. Durante la prueba se debe mantener una distancia de 25 mm ± 0.2 mm entre la cuchilla y el fondo del vaso.

Para mantener la muestra en el fondo del vaso y evitar que flote, se puede utilizar una espiral de materia no reactivo.⁽²⁾

2.1.3.MEDIO DE DISOLUCIÓN

En lo posible, las pruebas de disolución se deberán realizar bajo condiciones fisiológicas. Esto permite la interpretación de los datos de disolución en relación al rendimiento in vivo del producto. Sin embargo, no hace falta una adherencia estricta al ambiente gastrointestinal en las pruebas de disolución rutinarias. Las condiciones de prueba deberán basarse en las características fisicoquímicas de la sustancia medicinal y las condiciones ambientales a las cuales podría estar expuesta la forma de dosificación tras la administración oral. ⁽⁴⁾

La elección del líquido apropiado para las pruebas de disolución depende ampliamente de la solubilidad del fármaco, así como de simples motivos económicos y prácticos. ^{(3), (5)}

Por lo general el medio de disolución preferentemente es agua desairada o, si lo justifican las características de solubilidad del medicamento o de la formulación, se puede usar una solución amortiguadora acuosa desairada (habitualmente de pH 4 a 8) o un ácido diluido (ácido clorhídrico 0.001N A 0.1N). El volumen habitual de medio es de 500 a 1000 mL, permitiéndose el uso de volúmenes mayores (hasta 2000 mL) para fármacos que tienen solubilidad limitada. La cantidad del medio empleado no debe ser menor de 3 veces la que requiera para formar una solución saturada de fármaco. Se debe sopesar el agregado de solutos (es decir, agentes tensoactivos) y electrólitos para ayudar la solubilización del fármaco en función de la pérdida de sensibilidad de prueba. No se recomienda el uso de medios hidroalcohólicos. El uso de dichos medios debe estar respaldado por una correlación in vivo-in vitro documentada. En cambio, se debe reconocer que esta capacidad discriminatoria podría ser excesiva en algunas circunstancias porque podrían detectarse así diferencias en disolución que no son importantes desde el punto de vista clínico. ⁽⁵⁾

Se deberá realizar todas las pruebas de disolución para formas de dosificación a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Se puede utilizar el método de cesta o paleta para realizar las pruebas de disolución bajo condiciones de medios múltiples (p.ej. se puede realizar la prueba de disolución inicial a un pH de 1,2 y, tras un intervalo apropiado, se puede agregar una pequeña cantidad de tampón para aumentar el pH a 6,8). Como alternativa, si se desea agregar una enzima, se puede agregar después de los estudios iniciales (sin enzimas). El uso del Aparato 3 permite el cambio fácil del medio. También se puede adoptar el Aparato 4 para un cambio en medio de disolución durante el curso de disolución. ⁽⁴⁾

Los gases disueltos pueden, causar en algunos casos, la formación de burbujas que pueden alterar los resultados de la prueba. En dichos casos, los gases disueltos deben eliminarse antes de iniciar las pruebas.

(Un método para eliminar los gases es la siguiente: calentar el medio mezclando suavemente hasta aproximadamente 41°C ; inmediatamente filtrar al vacío utilizando un filtro con un tamaño de poro de 0,45 micras o menor, mezclando vigorosamente y continuar mezclando al vacío durante aproximadamente 5 minutos. También se puede emplear otra técnica de desgasificación validada para eliminar los gases.⁽³⁾
(5)

2.1.3.1. Efectos de parámetros de prueba sobre el medio de disolución

2.1.3.1.1. pH del medio de disolución

En un primer momento se puso gran énfasis y esfuerzo en simular condiciones in vivo, en especial el pH, la tensión superficial, la viscosidad y la condición del sumidero. La mayoría de los estudios preliminares fueron llevados a cabo en soluciones de HCl 0,1 N o soluciones buffer con un pH aproximado a aquel del jugo gástrico (pH 1,2). La solución ácida tiende a desintegrar los comprimidos algo más rápidamente que el agua y por tanto puede incrementar la velocidad de disolución por medio del aumento del área de superficie efectiva. Sin embargo, debido a la acción corrosiva de las emanaciones ácidas sobre el equipo de disolución, en la actualidad es de práctica general utilizar agua destilada a menos que estudios de investigación indiquen la necesidad específica de la solución ácida para obtener datos de disolución significativos. Otro enfoque para evitar los efectos deletéreos del ácido clorhídrico consiste en reemplazarlo con buffers ácidos como el fosfato ácido de sodio para mantener el bajo pH requerido.⁽⁷⁾

2.1.3.1.2. Tensión superficial del medio de disolución

Se ha demostrado que la tensión superficial tiene un efecto significativo sobre la velocidad de disolución de los fármacos y su velocidad de liberación de preparados sólidos. Las sustancias tensioactivas y los agentes humidificantes reducen el ángulo de contacto y por lo tanto mejoran el proceso de penetración de la matriz por el medio de disolución.

En estudios realizados con preparados de comprimidos y cápsulas convencionales también se observó un incremento significativo de la velocidad de disolución de los fármacos escasamente solubles cuando se agregaron sustancias tensioactivas al medio de disolución, incluso con un nivel por debajo de la concentración micelar crítica, probablemente por reducción de la tensión interfacial. Se ha aconsejado la inclusión de bajos niveles de sustancias tensioactivas en el medio de disolución ya que esto parece dar una mejor correlación entre los datos in vitro y la condición in vivo.

Finholt y Solvang compararon la conducta de disolución de comprimidos de fenacetina y fenobarbital en el jugo gástrico humano con aquella en ácido clorhídrico diluido con diversas cantidades de polisorbato 80, o sin éstas, en el medio de disolución. Los datos mostraron que tanto el pH como la tensión

superficial tienen una influencia significativa en la cinética de la disolución de los estudios de los fármacos. Por ejemplo, hallaron que no solo velocidad de disolución era más rápida en jugo gástrico diluido sino que aumentaba con la disminución del tamaño de las partículas, mientras que ocurría lo opuesto cuando se usaba HCl 0,1N. ⁽⁷⁾

2.1.3.1.3. Viscosidad del medio de disolución

En el caso de procesos de disolución controlados por difusión sería de esperar que la velocidad de disolución disminuyera con un aumento de la viscosidad. Sin embargo, en el caso de los procesos de disolución controlados a nivel de la interfase la viscosidad debe tener poco efecto. ⁽⁸⁾

2.1.4. AGITACIÓN

La relación entre la intensidad de la agitación y la velocidad de disolución varía en forma considerable con el tipo de agitación usado, el grado de flujo laminar y turbulento en el sistema, la forma y el diseño del agitador y las propiedades fisicoquímicas del sólido. Cuando se usa un dispositivo agitador, como la cesta, la paleta, un filtro giratorio, etc, la velocidad de la agitación genera un flujo que continuamente modifica la interfase líquido- sólido entre el solvente y el fármaco en una forma similar a la velocidad de flujo en el aparato de disolución de flujo a través del producto de prueba. ⁽³⁾

Por lo general, se deberá mantener condiciones de agitación suave durante las pruebas de disolución para permitir un poder de discriminación máximo y para detectar productos con un pobre rendimiento in vivo. Utilizando el método de cesta, la agitación (o velocidad de mezcla) común es de 50-100 rpm; con el método de paleta, es de 50-75. ⁽⁹⁾ Casi nunca se utilizan los Aparatos 3 y 4 para evaluar la disolución de productos medicinales de liberación inmediata. ⁽⁴⁾

Otros factores que afectan la correlación entre la agitación y la velocidad de disolución incluyen la densidad de la fase sólida, el tamaño y las características del sólido, el agitador, el recipiente de disolución y el calor de la solución del soluto. ⁽³⁾

2.1.5. TEMPERATURA

Dado que la solubilidad de los fármacos depende de la temperatura, su control cuidadoso durante el proceso de disolución es muy importante y debe de mantenerse dentro de un espectro de 0.5 grados centígrados. En general siempre se mantiene una temperatura de 37 grados centígrados durante las determinaciones de disolución. Efecto de las variaciones de la temperatura del medio de disolución depende principalmente de la curva de temperatura/ solubilidad del fármaco y los excipientes en el preparado. La temperatura del medio de disolución debe ser mantenida rigurosamente con vibraciones mínimas y sin puntos de calentamientos excesivo localizados. ^{(3) (10)}

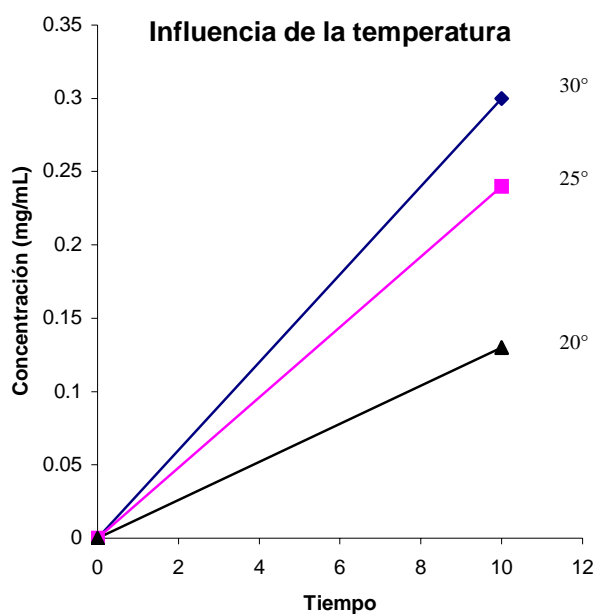


Figura 1. Efecto de la temperatura sobre la velocidad de disolución y desintegración del comprimido

2.2. CALIBRACIÓN DEL EQUIPO DE DISOLUCIÓN.

El equipo de disolución utilizado debe cumplir con las dimensiones y especificaciones descritas en el método general de análisis MGA 0291 de la FEUM, así como con la normatividad aplicable. La prueba de disolución se lleva a cabo en un equipo que cumplan con los requisitos, y que esté calibrado.

La Calibración Mecánica consiste en realizar ciertos parámetros y cumplir con las especificaciones mecánicas descritas en la FEUM, USP 29 y la NORMA 177. Indicadas en la siguiente tabla:

Tabla 1. Especificaciones Mecánicas

Parámetro	Especificación
Vibración	Máximo 0.1 mils (mils=unidades de vibración)
Nivelación de la base y cabezal con respecto al plano horizontal.	Debe presentar una nivelación correcta
Temperatura	Temperatura seleccionada ± 0.5 °C
Velocidad (rpm's)	Velocidad seleccionada ± 4.0 %
Circularidad de flechas y paletas.	Desviación máxima de 0.125 mm
Concentricidad de las canastillas con respecto al eje de rotación	Desviación máxima de + 1 mm
Oscilación de los ejes de agitación	Deflexión máxima de +1 mm
Equidistancia de aspas de paleta con respecto al eje de rotación.	Desviación máxima de 0.5 mm
Perpendicularidad de los ejes de agitación con respecto a la base	La desviación debe ser menor a 0.76°

Tabla 2. Especificaciones de dimensiones

Parámetro	Especificación
Vaso	Altura: 160 – 210 mm Diámetro interno: 98 – 106 mm
Eje	Diámetro: 6.3 – 6.5 mm / 9.4 – 10.1 mm
Seguro de retención	Soporte de acero inoxidable con 3 grapas Orificio de salida: 1.5 – 2.5 mm, Altura: 4.6 – 5.6 mm
Canastillas	Tamiz 40 x 40, 0.254 mm Altura total: 34.0 – 40.0 mm Altura del tamiz 26.0 – 28.0 mm Diámetro interno 20.1 – 20.3 mm Diámetro externo tamiz 21.2 – 23.2 mm Diámetro externo arillo 22.0 – 28.0 mm
Paleta	Diámetro sin teflón: 9.4 – 10.1 mm Espesor de la hélice: 3.0 – 5.0 mm Altura de la hélice: 18.5 – 19.5 mm Cuerda mayor: 74.0 – 75.0 mm Cuerda menor: 41.0 – 43.0 mm

La calibración Analítica se realiza con estándares USP que cuentan con valores de % disuelto definidos bajo condiciones específicas de análisis.

Los aparatos 1 y 2 de la USP se deben calibrar antes de ser usados por medio de dos tipos de calibradores aconsejados por la USP, un tipo desintegrador (prednisona) y un tipo no desintegrador (ácido salicílico). Los comprimidos están disponibles en la USP. El aparato es apto si los resultados obtenidos están dentro del intervalo aceptable que aparece en el certificado del calibrador del aparato que se evaluó. ^{(3) (5)}

Se utilizan las condiciones y criterios de aceptación para las tabletas desintegrantes de Prednisona que se establecen en la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones para las tabletas USP de Prednisona

Aparato	Velocidad r.p.m	% disuelto a los 30 minutos.
Canastillas (USP No 1)	50 r.p.m	51-81%
Paletas (USP No 2)	50 r.p.m	26-47 %

Se utilizan las condiciones y criterios de aceptación para las tabletas no desintegrantes de Ac. Salicílico que se establecen en la Tabla 4.

Tabla 4. Condiciones para las tabletas USP de Ac. Salicílico

Aparato	Velocidad r.p.m	% disuelto a los 30 minutos.
Canastillas (USP No 1)	100 r.p.m	23-30%
Paletas (USP No 2)	100 r.p.m	17-25 %

2.3. TIEMPO DE LA DISOLUCIÓN E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

La prueba farmacopéica en general demora entre 30 y 60 minutos con la especificación de una sola toma de muestra. Para asegurar los tiempos de desintegración típicos, los tiempos de prueba menores a 30 minutos se deben basar en una necesidad demostrada. Los conceptos industriales y reglamentarios en lo que respecta a la comparabilidad y el comportamiento del producto, pueden exigir más de una toma de muestra, y eso también puede ser necesario para el registro y aprobación del producto. Confines de registro, se debe determinar un grafico del porcentaje de fármaco disuelto en función del tiempo. Se deben seleccionar suficientes tiempos de muestra para una adecuada caracterización de la fase ascendente y la meseta de una curva de disolución.

Los tiempos y las especificaciones de la prueba de disolución generalmente se basan en una evaluación de los datos del perfil de disolución. Las especificaciones características de la cantidad disuelta de ingrediente activo, expresada como un porcentaje de contenido declarado en la etiqueta (Q), esta en el intervalo del 70 al 80 % de Q. Por lo general no se usa un valor Q, que supere el 80 % ya que se tienen que tomar en cuenta las variaciones permitidas para la valoración y uniformidad de contenido.

En el caso de productos que contienen más de un ingrediente activo, la disolución debe determinarse habitualmente para cada ingrediente activo. Cuando se agrega una prueba de disolución a una monografía existente, se suprime la prueba de desintegración, sin embargo para el caso de preparaciones sublinguales, se puede mantener un tiempo de desintegración corto como una especificación de la monografía además de un requisito de disolución. ⁽⁵⁾

Interpretación de Q

Muestra unitaria: a menos que se especifique algo diferente en la monografía individual, se cumplen los requisitos si la cantidad de ingrediente activo disuelto que contienen las unidades en prueba se ajustan a la tabla de aceptación. La cantidad de Q, es la cantidad de ingrediente activo disuelta especificada en la monografía individual, expresada como un porcentaje del contenido declarada en la etiqueta. ⁽⁵⁾

Tabla 5. Criterios de aceptación para la determinación de disolución

Etapas	Cantidad Aprobada	Criterios de aceptación
S ₁	6	Ninguna unidad es menor de Q + 5 %
S ₂	6	El promedio de 12 unidades (S ₁ + S ₂) es igual o mayor que Q y ninguna unidad es menor de Q- 15 %
S ₃	12	El promedio de 24 unidades (S ₁ + S ₂ + S ₃) es igual o mayor que Q, no más de 2 unidades son menores de Q-15%, y ninguna unidad es menor de Q-25%.

2.4. ESPECIFICACIONES PARA LA PRUEBA DE DISOLUCIÓN.

Se establecen las especificaciones de disolución in vitro para asegurar la constancia de tanda en tanda y para indicar posibles problemas con la biodisponibilidad in vivo.

Las especificaciones de disolución deberán basarse en la experiencia obtenida durante el proceso del desarrollo del fármaco y el rendimiento in vitro de tandas de prueba apropiadas. En el caso de un producto medicinal genérico, por lo general las especificaciones de disolución son las mismas del fármaco de referencia. Se confirman las especificaciones probando el rendimiento de disolución del producto medicinal genérico de un estudio de bioequivalencia aceptable. Si la disolución del producto genérico es sustancialmente distinta en comparación con la del fármaco de referencia y los datos in vivo siguen siendo aceptables, se puede establecer una especificación de disolución distinta para el producto genérico. Una vez que se establece una especificación de disolución, el producto medicinal deberá cumplir con esa especificación a lo largo de su vida de estante.

Existen tres categorías de especificaciones de pruebas de disolución para productos medicinales de liberación inmediata.

• Especificaciones de punto único

1. Como prueba de control de calidad rutinaria. (Para productos medicinales altamente solubles y de rápida disolución.)

• Especificaciones de dos puntos

1. Se utiliza para caracterizar la calidad del producto medicinal.
2. Como prueba de control de calidad rutinaria para ciertos tipos de productos medicinales

• Comparación de perfiles de disolución

1. Para aceptar la igualdad de productos.
2. Para eximir de los requisitos de bioequivalencia para las concentraciones menores de una forma de dosificación.
3. Para apoyar exenciones para otros requisitos de bioequivalencia.

En el futuro, un enfoque de dos puntos en el tiempo puede ser útil, para caracterizar un producto medicinal como especificación de control de calidad.⁽⁴⁾

2.5. VENTAJAS DE LA AUTOMATIZACIÓN EN LAS PRUEBAS DE DISOLUCIÓN

Debido a la gran cantidad de pruebas necesarias para determinar la velocidad de disolución de los fármacos, la automatización del proceso parecía casi una necesidad y no simplemente una conveniencia para el operador. Además debido a la naturaleza modular de los aparatos de disolución, la automatización puede llevarse a cabo fácilmente de diferentes formas y por medio de diversas técnicas.

Sin embargo, en la actualidad la disposición del aparato, la preparación de los medios y la introducción de los preparados se hace más que nada en forma manual. El resto del proceso que incluye el retiro de la muestra, el mantenimiento de un cierto pH o de condiciones de sumidero, la realización de ensayo y la adquisición y los cálculos de los datos en muchos de los casos está totalmente automatizado. El proceso de automatización no sólo ahorra dinero, tiempo y esfuerzo por parte del operador sino que más significativamente mejora la confiabilidad global e incrementa la reproducibilidad de los procedimientos de prueba.^{(3) (11)}



Figura 2. Disolutor Automático

2.6. PERFIL DE DISOLUCIÓN

Un perfil de disolución considera diversos tiempos de muestreo, lo que permite establecer la velocidad de disolución. Un gran número de estudios reportados en la literatura han demostrado que si una prueba comparativa de los perfiles de disolución entre el medicamento de referencia y el medicamento de prueba, se diseña y se lleva a cabo de acuerdo con un procedimiento establecido, los equivalentes farmacéuticos que demuestran comportamiento semejante en relación con sus características de velocidad de disolución, probablemente tendrán también una biodisponibilidad comparable.⁽²⁾

2.6.1. Criterios y requisitos generales para las pruebas

Criterios generales.

Todos los pasos involucrados en los métodos de análisis para realizar las pruebas de intercambiabilidad deben describirse en un PNO.

Utilizar como medicamento de referencia el indicado por la Secretaría

Para aquellos medicamentos que se presentan en más de una concentración, se puede realizar el estudio de bioequivalencia con una de las concentraciones y los resultados pueden ser extrapolables para las otras concentraciones.

El perfil de disolución o el estudio de bioequivalencia del medicamento de prueba se debe realizar con un lote estándar de producción o bien con un lote escalado.

En caso de realizarse la prueba de bioequivalencia se deben realizar perfiles de disolución, ambas pruebas deben llevarse a cabo con los mismos lotes del producto de prueba y el de referencia.

Además de la comparación de los perfiles de disolución o del estudio de bioequivalencia, se deben realizar las pruebas de valoración y uniformidad de dosis expresada como uniformidad de contenido.

Cuando el medicamento contenga más de un fármaco, se debe evaluar el perfil de disolución o la bioequivalencia para cada uno de ellos.

Las conclusiones de la prueba de intercambiabilidad son válidas para todos los lotes subsecuentes del medicamento de prueba que se elaboren de acuerdo con la NOM-059-SSA1-1993,

Deben llevarse registros de recepción, uso, destino y balance de los medicamentos de prueba y de referencia.

Los medicamentos de prueba y de referencia deben tener al menos un año de vigencia antes de su fecha de caducidad al momento de realizar el estudio.

Los medicamentos de prueba y de referencia deben almacenarse de acuerdo con las indicaciones de la etiqueta.

Los medicamentos de prueba y de referencia deben almacenarse en cantidad suficiente para realizar tres veces el estudio.

Las pruebas de valoración y uniformidad de dosis deben realizarse siguiendo los métodos descritos en la FEUM, en farmacopeas reconocidas internacionalmente o métodos validados.

El porcentaje de valoración del medicamento de prueba debe estar dentro de los límites farmacopéicos y no debe diferir en más del 5% del medicamento de referencia.

Los medicamentos de referencia y de prueba deben cumplir con los criterios de uniformidad de contenido descritos en el método general de análisis de uniformidad de dosis de la FEUM vigente.

Utilizar sustancias de referencia trazables con patrones de referencia de reconocimiento nacional o internacional.⁽²⁾

Registrar y almacenar por escrito todos los acontecimientos ocurridos durante la realización de las pruebas.

Los registros deben resguardarse para evitar su alteración o deterioro, por lo menos durante tres años o un año después de la fecha de caducidad de cualquiera de los medicamentos, lo que ocurra más tarde.⁽¹⁾

Los instrumentos de medición deben estar calibrados.

2.6.2. Criterios y requisitos para la evaluación de perfiles de disolución

Calibración de equipo.

- Calibración Física
- Calibración Química

Perfil de disolución.

- Realizar los perfiles de disolución con 12 unidades, tanto del medicamento de prueba como el medicamento de referencia, en las mismas condiciones experimentales.
- El método de evaluación del perfil de disolución se debe registrar por escrito antes de realizar el estudio, incluyendo las condiciones experimentales.
- Las condiciones experimentales para realizar la comparación del perfil de disolución deben ser las establecidas por la FEUM o en las farmacopeas reconocidas internacionalmente

- Para realizar el perfil de disolución, deben seleccionarse por lo menos cinco tiempos de muestreo (excepto el tiempo cero) que permitan caracterizar apropiadamente la curva ascendente y la fase de meseta.
- Durante la realización del perfil de disolución, los muestreos deben realizarse, dentro de los tiempos establecidos en el método de evaluación con una variación que no afecte los resultados de la prueba.
- El volumen extraído puede o no ser reemplazado.

2.6.3. Factores adicionales para llevar a cabo el perfil de disolución

- Una diferencia no mayor que el 5 por ciento en la valoración y Uniformidad de dosis del principio activo entre el producto de referencia y el producto de prueba, permiten el control de factores adicionales en la comparación de los perfiles de disolución.
- Para que los perfiles de disolución sean validos ambos productos cumplen al menos con el segundo criterio de aceptación de la prueba de disolución de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (el promedio de 12 unidades es igual o mayor que Q y ninguna unidad es menor que Q-15 por ciento).
- La filtración es una operación que puede causar interferencia en la determinación de la disolución, causada por el efecto del material filtrante sobre el principio activo.
- Los gases disueltos en el medio pueden modificar el comportamiento de la disolución
- No efectuar ningún ajuste por peso para el cálculo del porcentaje disuelto. ⁽¹⁾

2.6.4. Comparación de los perfiles de disolución

Para comparar los perfiles de disolución se utiliza el factor de similitud (f), que es un valor puntual que proviene de un modelo matemático y permite relacionar a través de una transformación logarítmica la semejanza entre los perfiles de disolución de los medicamentos de referencia y de prueba. Esta aproximación es válida bajo las siguientes consideraciones:

- Los tiempos de muestreo son idénticos para ambos.
- La norma establece 5 tiempos para lograr la mejor caracterización de la curva.
- Los perfiles de disolución se realizan exactamente en las mismas condiciones operacionales.
- La curva de disolución se evalúa en parte ascendente y en su meseta. ⁽²⁾

2.6.5. Evaluación y reporte de los perfiles de disolución.

- El porcentaje disuelto debe calcularse con respecto a la dosis nominal del fármaco.
- Se deben reportar los porcentajes disueltos a cada tiempo de muestreo en cada unidad de dosificación, así como los porcentajes disueltos promedio, los coeficientes de variación y los valores máximo y mínimo.
- Se deben graficar los porcentajes disueltos promedio y los de cada unidad de dosificación contra el tiempo.
- Si el coeficiente de variación del porcentaje disuelto es menor o igual que el 20% para el primer tiempo de muestreo y menor o igual que el 10% para los tiempos subsecuentes, se comparan los perfiles de disolución usando el factor de similitud (f) definido en la siguiente ecuación:

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

Donde:

n = número de tiempos de muestreo.

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

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

Si el valor de f es igual o mayor que 50 (entre 50 y 100), los perfiles son similares. ⁽¹⁾

2.7. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

La validación del método analítico se justifica en virtud de que al realizar las pruebas de perfil de disolución se deben cuantificar concentraciones menores que el valor de Q, además que hay que evaluar que no haya interferencias debidas a los aditivos.

- La validación del método para el perfil de disolución comienza a partir de la filtración
- La validación del método analítico debe realizarse con el medicamento de referencia y con el medicamento de prueba, utilizar la misma técnica de validación para ambos medicamentos, ya sea la técnica de porcentaje de recuperación o la técnica de estándar adicionado.
- La validación del método analítico debe realizarse con una muestra pulverizada homogénea y representativa del producto. Esta misma debe utilizarse durante toda la validación.

El método analítico que se utilice para realizar el perfil de disolución debe estar debidamente validado, y cumplir al menos con los siguientes parámetros:

2.7.1. Parámetros de validación del sistema.

Linealidad. Se debe demostrar una linealidad del sistema con al menos cinco puntos (excepto el cero) por duplicado, con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor que el 2%.

Precisión. De los datos de linealidad se debe demostrar que el coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor que el 2%.

2.7.2. Parámetros de validación del método.

Validar el método analítico para los medicamentos de prueba y medicamento de referencia. Si se tienen disponibles los placebos de los medicamentos, realizar la validación mediante el porcentaje de recuperación; cuando no sea posible obtener los placebos del medicamento de prueba o medicamento de referencia, realizar la validación mediante el método de estándar adicionado, esto es, agregar a cada medicamento cantidades conocidas del fármaco y determinar:

Linealidad.

El método debe demostrar una linealidad con al menos 5 puntos (que incluya los puntos extremos excepto el cero) por triplicado, con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor que el 3%.

Exactitud.

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

Precisión.

Repetibilidad. El coeficiente de variación del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no debe ser mayor que el 3%.

Reproducibilidad. Evaluar el efecto de los eventos aleatorios en la precisión del método analítico, tales como los días, los analistas o los equipos. Debe analizarse una muestra homogénea del producto, al menos por triplicado para probar cada condición. El coeficiente de variación global no debe ser mayor que el 3%.

Estabilidad de la muestra.

Determinar las condiciones de temperatura y tiempo entre otros, en las que el compuesto permanezca estable.

Selectividad.

Se debe demostrar la selectividad del método para el fármaco ante otros componentes de la muestra, cualquier interferencia no debe producir un error mayor al aceptado en precisión y exactitud.^{(1) (2)}

2.8. MONOGRAFIA DE METFORMINA, CLORHIDRATO

Propiedades químicas

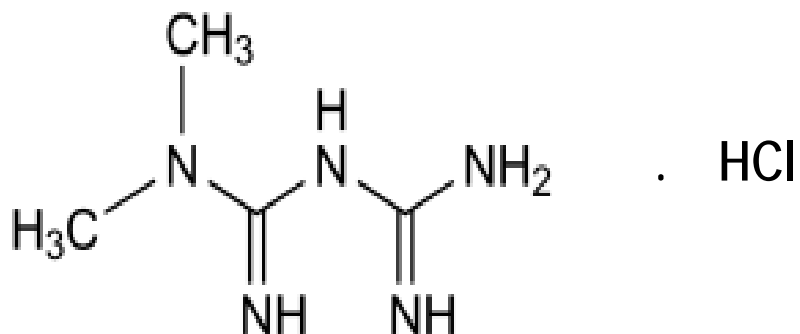


Figura 3. Fórmula desarrollada de metformina, clorhidrato

Fórmula condensada de metformina:

$C_4H_{11}N_5=129.2$

CAS—657-24-9

Fórmula condensada de clorhidrato de metformina:

$C_4H_{11}N_5, HCl = 165.6$

CAS—1115-70-4

Nombre químico de metformina:

N,N-Dimethylimidodicarbonimidic diamide

Nombre químico de metformina, clorhidrato:

Monoclorhidrato de *N,N*-dimetil-imidodicarbonimídico diamida

Propiedades fisicoquímicas

Descripción: Polvo blanco cristalino, higroscópico.

Punto de fusión: Alrededor de 225°.

Solubilidad: Soluble en agua o alcohol; prácticamente insoluble cloroformo y éter.

Constante de disociacion

pK_a 2.8, 11.5 (32°).

Espectro ultravioleta

Metanol—236 nm (A^1_{1163b}).

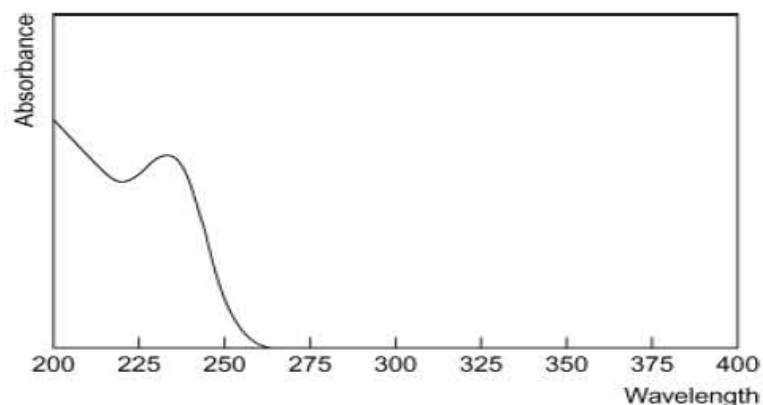


Figura 4. Espectro de Metformina en Metanol

La metformina es una biguanida de nueva generación con acciones similares a las de un análogo más antiguo, la fenformina, el cual fue retirado del mercado debido a su asociación con episodios severos de acidosis láctica. El mecanismo de acción de la metformina es un aumento de la utilización tisular periférica y una disminución de la producción hepática de glucosa. La acidosis láctica es una complicación rara, incluso en pacientes con disfunción renal.

Es un fármaco antihiper glucémico oral utilizado para el tratamiento de la diabetes mellitus de tipo 2. Puede administrarse como fármaco único o como adyuvante de un régimen dietético o una sulfonilurea, para reducir el nivel sanguíneo de glucosa. Aumenta la tolerancia a la glucosa a través de la disminución de los niveles basales y posprandiales de ésta. Su mecanismo de acción difiere del de las sulfonilureas y no provoca hipoglucemia. Reduce la producción hepática de glucosa, disminuye la absorción intestinal de glucosa y aumenta la sensibilidad a la insulina, a través de un incremento de la captación y la utilización periféricas de glucosa. La biodisponibilidad oral de la metformina en ayunas es del 50 al 60%; los alimentos reducen su absorción. La metformina se excreta inalterada en la orina y no experimenta metabolismo hepático.

2.8.1. Farmacocinética y farmacodinamia

Farmacocinética: La absorción intestinal de la metformina puede extenderse alrededor de 6 horas. La concentración máxima en plasma en condiciones estables después de una dosis oral se alcanza entre los 27 a 48 minutos con un promedio de 40 ± 5.3 minutos y va de 2 a 4 ml. La vida media plasmática es de 1.25 a 2.6 horas con un promedio de 1.8 ± 0.6 horas. La unión a proteínas plasmáticas es prácticamente nula. Su biodisponibilidad a dosis terapéuticas alcanza de 50 a 60%.

Metabolismo: Se biotransforma muy poco, su metabolito principal es la hidroximetilbiguanida (hidroxilación) y esto sucede en el hígado a nivel microsomal.

Eliminación o excreción: Principalmente por los riñones 8-90%, la eliminación de este fármaco en sujetos sanos y en pacientes diabéticos con función renal normal es alrededor de 4 veces la eliminación de la creatinina, lo cual sugiere que la activa secreción tubular es un mecanismo importante de eliminación. Este fármaco también se elimina por las glándulas salivales.

Farmacodinamia: La metformina reduce el nivel de la glucosa en pacientes diabéticos, mientras que a diferencia de las sulfonilureas no causa una reducción de los niveles de la glucosa en sujetos normoglucémicos. La acción antihiper glucémica es debida principalmente a su mecanismo de acción en sitios extrapancreáticos. La principal acción de la metformina es resultado de la potencialización de los efectos metabólicos de la insulina en los tejidos periféricos. Esto resulta de un transporte incrementado de glucosa en el interior de la célula, un aumento de la oxidación de glucosa y a un incremento en la incorporación a glucógeno. En el hígado, la metformina inhibe la gluconeogénesis, también por incremento en la sensibilidad a la insulina. La hiperglucemia posprandial se reduce como resultado de un mecanismo de absorción de glucosa retardada a nivel gastrointestinal de metformina.

Estas propiedades de la metformina significan que la acción de la metformina depende de la presencia de cierto grado de insulina plasmática, ya sea de origen endógena o exógena. Agregado a su efecto antihiper glucémico, la metformina tiene efectos favorables sobre el metabolismo de grasas. Los niveles de triglicéridos y colesterol se reducen con el tratamiento. La actividad anoréxica de la metformina favorece la pérdida de peso y, por lo tanto, da soporte a las medidas de reducción y/o conservación de peso. El espectro de acción de la metformina hace el tratamiento particularmente adecuado para pacientes diabéticos no insulino dependientes con sobrepeso, en quienes la hiperglucemia es generalmente causada por resistencia periférica a la insulina y en quienes se asocian trastornos de hiperlipoproteinemias.

2.8.2. Contraindicaciones

Pacientes en cetoacidosis o coma diabético. Hipersensibilidad al fármaco, alto grado de desnutrición y grave compromiso del estado general. Nivel sérico de creatinina ³ 1.5 mg/dl, insuficiencia renal y/o hepática, alteraciones cardiovasculares y respiratorias, intoxicación alcohólica o alcoholismo, régimen hipocalórico y embarazo.

Los efectos adversos más frecuentes se relacionan con el tracto gastrointestinal y comprenden diarrea, náuseas, vómitos, distensión abdominal, flatulencia y anorexia. En raros casos la metformina puede provocar una acidosis láctica grave.

2.8.3. Precauciones generales

Precauciones: Existen varios informes relacionados con el uso de biguanidas como un factor que puede propiciar la aparición de acidosis láctica, trastorno metabólico potencialmente fatal, caracterizado por elevación de los niveles de lactato, aumento de la relación lactato-piruvato y una disminución del pH sanguíneo. Aunque estos informes, en su mayoría, se refieren al uso terapéutico de otras biguanidas, hace necesario tomar en cuenta las siguientes precauciones para su uso: no utilizarlo en pacientes con alteraciones capaces de aumentar el riesgo de acidosis láctica como insuficiencia cardíaca, renal y hepática, enfermedades vasculares isquémicas, insuficiencia respiratoria, infarto agudo del miocardio y otras enfermedades caracterizadas por hipoxemia. En caso de presentar síntomas como dolor abdominal, vómito, hiperventilación, náusea y malestar general, esta situación deberá notificarse inmediatamente a su médico.

Durante el uso de metformina no se deberá tomar ácido acetilsalicílico, anticoagulantes ni fibrinolíticos.

2.8.4. Reacciones secundarias y adversas

Intolerancia gastrointestinal como náusea, vómito, diarrea, anorexia, gastralgia y sabor metálico. En general, estos síntomas son dosis-dependiente y transitorios, y no se requiere discontinuar el tratamiento. En casos rarísimos, acidosis láctica en pacientes con factores predisponentes como insuficiencia renal y colapso circulatorio.

2.8.5. Interacciones medicamentosas y de otro género

La metformina potencializa el efecto de los anticoagulantes y de los fibrinolíticos. Inhibe la absorción de la vitamina B12, en casos aislados. La metformina por sí sola no causa hipoglucemia. Sin embargo, se debe

prestar atención en la posibilidad de hipoglucemia cuando se administra concomitantemente con otros agentes hipoglucemiantes.

La clorpromazina, corticoides, diuréticos, hormonas tiroideas, simpaticomiméticos y anticonceptivos orales pueden reducir el efecto reductor de la glucosa de la metformina mediante alteración de la tolerancia a la glucosa. Los antiinflamatorios no esteroideos, el ácido acetilsalicílico o la cimetidina pueden reducir la excreción renal de metformina y, por lo tanto, aumentar el riesgo de acidosis láctica.

2.8.6. Disponibilidad en el cuerpo

Se absorbe lentamente después de la administración oral. Alrededor de 30 al 50% de una dosis oral es excretada en la orina sin cambio a 24 h, y alrededor del 30 % de la dosis es eliminada sin cambio en las heces.

2.8.7. Concentración terapéutica

Siguiendo una dosis oral simple de 0.5 g y 1.5 g para 4 sujetos la concentración máxima del plasma es 0.59 para 1.3 mg/L (promedio 1.0) y 1.8 para 4.0 mg/L (promedio 3.1), respectivamente, fue obtenido alrededor de 2 h. Siguiendo una dosis oral simple de 0.5 g y 1.7 g y 2.5 para 6, 13 y 12 sujetos, el promedio constante- del estado de la concentración del plasma es 0.16, 0.38, y 1.0 mg/L, respectivamente, fue reportado.

2.8.8. Toxicidad

En plasma y orina la concentración de 85 y 389 mg/L, respectivamente, fue reportado en un sujeto, 12 h después de la ingestión de 25.5 g; la muerte ocurrió después de dos semanas

Un hombre de 58 años de edad quien murió de ingerir aproximadamente 20 g de metformina plus tuvo un nivel inicial de metformina de 110 mg/L. ^{(3) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18)}

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

- Comprobar que el método analítico de disolución de clorhidrato de metformina es exacto, lineal, preciso y específico dentro del rango establecido, a fin de que pueda ser utilizado en el estudio de disolución de las tabletas en estudio.

3.2. Objetivos Particulares

- Caracterizar el comportamiento espectrofotométrico de clorhidrato de metformina.
- Realizar las pruebas de control de calidad de los productos en estudio.
- Validar el método analítico de disolución.
- Realizar el perfil de disolución de los medicamentos en estudio.
- Calcular el factor de similitud de cada uno de los medicamentos en estudio con el medicamento de referencia.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Reactivos

Agua purificada destilada

Fosfato de potasio monobásico

Hidróxido de sodio

Ácido fosfórico

4.2. Equipos Y Materiales

Disolutor Vankel Mod. VK7000

Balanza analítica Sartorius 210 g

Termómetro Brannan

Espectrofotómetro Cary 100 E

Celdas de cuarzo de 10 mm y 0.05 mm

Potenciómetro Corning

Agitador magnético LAB-LINE

Matraces volumétricos de 25, 50 y 100 mL

Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5, y 6 mL

Embudos de filtración

Papel filtro Whatman 125 mm

Vasos de Precipitado Erlenmeyer de 1000 mL

Probetas de plástico 1000 mL

Estándar utilizado:

Estándar secundario de Clorhidrato de Metformina, Lote: YA5-1139. Laboratorios PROBIOMED S.A. de CV.

4.3. Selección De Medicamentos

Este trabajo se llevara a cabo con 5 productos (dos lotes de cada uno) comerciales que contienen cada uno 500 mg de clorhidrato de metformina como principio activo.

Tabla 6. Productos que contienen como principio activo clorhidrato de metformina.

Numero de productos	Forma Farmacéutica	Clave asignada	Presentación
1	Tabletas de 500 mg	A1	Caja con 60 tab.
2	Tabletas de 500 mg	A2	Caja con 60 tab.
3	Tabletas de 500 mg	B1	Caja con 40 tab.
4	Tabletas de 500 mg	B2	Caja con 40 tab.
5	Tabletas de 500 mg	C1	Caja con 30 tab.
6	Tabletas de 500 mg	C2	Caja con 30 tab.
7	Tabletas de 500 mg	D1	Caja con 30 tab.
8	Tabletas de 500 mg	D2	Caja con 30 tab.
9	Tabletas de 500 mg	E1	Caja con 60 tab.
10	Tabletas de 500 mg	E2	Caja con 60 tab.

4.4. Pruebas De Control De Calidad

Realizar las siguientes determinaciones de calidad para los medicamentos de prueba:

- Identidad
- Valoración
- Uniformidad de dosis

4.4.1. Prueba De Identidad

Preparación de la solución estándar de referencia

Pesar con precisión 10 mg de clorhidrato de metformina de pureza conocida, adicionarlos a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver, aforar con agua purificada, mezclar y tomar una alícuota de 10 mL de esta solución y depositar a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con agua purificada y mezclar. La concentración resultante es de 10 µg/mL.

Preparación de la solución de la muestra

Pesar no menos de 20 tabletas, calcular su peso promedio, triturar hasta polvo fino en un mortero, de este polvo pesar una cantidad equivalente a 100 mg de Clorhidrato de Metformina y adicionarlos a un matraz volumétrico de 100 mL mezclar con 70 mL de agua purificada, agitar por 15 minutos, llevar al aforo con agua purificada, mezclar y filtrar, descartar los primeros 20 mL. Del filtrado pasar una alícuota de 1.0 mL a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con agua purificada y mezclar. La concentración resultante es de 10 µg/mL.

Procedimiento

Realizar un barrido de 200-250 nm, de la solución de referencia y de la solución de las muestras a la longitud de onda de máxima absorbancia de 232 nm utilizando celdas de 1 cm y agua purificada como blanco de ajuste.

Criterio de aceptación: El espectro de absorción obtenido para la preparación de la muestra exhibe máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que el espectro obtenido para la preparación del estándar de referencia.

4.4.2. Valoración

Preparación de la solución estándar de referencia

Pesar con precisión 10 mg de clorhidrato de metformina de pureza conocida, adicionarlos a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver, aforar con agua purificada, mezclar y tomar una alícuota de 10 mL de esta solución y depositar a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con agua purificada y mezclar. La concentración resultante es de 10 µg/mL.

Preparación de la solución de la muestra

Pesar no menos de 20 tabletas, calcular su peso promedio, triturar hasta polvo fino en un mortero, de este polvo pesar una cantidad equivalente 100 mg de Clorhidrato de Metformina y adicionarlos a un matraz volumétrico de

100 mL mezclar con 70 mL de agua purificada, agitar por 15 minutos, llevar al aforo con agua purificada, mezclar y filtrar, descartar los primeros 20 mL. Del filtrado pasar una alícuota de 1.0 mL a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con agua purificada y mezclar. La concentración resultante es de 10 µg/mL.

Procedimiento

Determinar la absorbancia de la preparación muestra y de la preparación de referencia a la longitud de onda de máxima absorbancia de 232 nm utilizando celdas de 1 cm y agua purificada como blanco de ajuste.

Calcular los miligramos de clorhidrato de metformina por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{mg de clorhidrato de metformina} = \frac{\text{Abs mtra} \times \text{Peso Std} \times \text{Alícuota Std} \times \text{Aforo mtra} \times \text{Aforo mtra} \times \text{Pot Std}}{\text{Abs Std} \times \text{Aforo} \times \text{Aforo Std} \times \text{Peso mtra} \times \text{Alícuota mtra}} \times \text{P.Promedio}$$

$$\% \text{ de clorhidrato de Metformina} = (\text{mg p.a} / 500) * 100$$

Criterio de aceptación: El producto cumple la prueba de valoración si esta dentro del intervalo de 90 - 110 % y con una desviación estándar menor o igual al 2%.

4.4.3. Uniformidad De Dosis

Preparación de la solución estándar de referencia

Pesar con precisión 10 mg de clorhidrato de metformina de pureza conocida, adicionarlos a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver, aforar con agua purificada, mezclar y tomar una alícuota de 10 mL de esta solución y depositar a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con agua purificada y mezclar. La concentración resultante es de 10 µg/mL.

Preparación de la solución de la muestra

Pesar no menos de 20 tabletas, adicionar una tableta a un matraz volumétrico de 100 mL, hacerlo con 10 unidades, mezclar con 70 mL de agua purificada, agitar por 30 minutos, llevar al aforo con agua purificada, mezclar y filtrar, descartar los primeros 20 mL. Del filtrado pasar una alícuota de 10 mL a un matraz volumétrico de 50 mL, llevar al aforo con agua purificada y mezclar. De la solución anterior pasar una alícuota de 1 mL a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con agua purificada y mezclar. La concentración resultante es de 10 µg/mL.

Procedimiento

Determinar la absorbancia de la preparación muestra y de la preparación de referencia a la longitud de onda de máxima absorbancia de 232 nm utilizando celdas de 1 cm y agua purificada como blanco de ajuste.

Calcular el % de clorhidrato de metformina por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Clorhidrato de metformina} = \frac{\text{Abs mtra} \times \text{Peso Std} \times \text{Alícuota Std} \times \text{Aforo mtra} \times \text{Aforo mtra} \times \text{Aforo mtra} \times \text{Pot Std}}{\text{Abs Std} \times \text{Aforo} \times \text{Aforo Std} \times \text{mtra} \times \text{Alícuota mtra} \times \text{Alícuota mtra}}$$

Esta relación se realizó para 10 tabletas.

Criterio de aceptación: El producto cumple la prueba de uniformidad de dosis si esta dentro del intervalo de 85 - 115 % y con una desviación estándar menor o igual al 6%.

4.5. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA DISOLUCION.

4.5.1. Condiciones experimentales para la disolución

- Preparar una curva de calibración para cada prueba de disolución
- Encender el disolutor y el espectrofotómetro media hora antes de comenzar la prueba
- Ajustar automáticamente las condiciones experimentales las cuales se muestran a continuación:

Tabla 7. Condiciones experimentales para la disolución

Condiciones experimentales	
Medio de disolución	Fosfato de potasio monobásico a 0.68 %, pH 6.8
Aparato	1 (canastillas)
Tiempo de muestreo	60 minutos (10, 15, 20, 30, 45, 60 min.)
Velocidad	100 rpm
Temperatura del medio	37°C ± 0.5°C
Volumen	900 mL
Longitud de onda	233 nm
Q =	70 %

- Desgasificar el medio de disolución
- Calibrar la altura de las paletas y transferir el medio de disolución a cada vaso del disolutor.
- Verificar la temperatura y que todas las condiciones experimentales sean las adecuadas.
- Colocar cada tableta en la canastilla del aparato y accionar el equipo.
- Determinar el % disuelto de clorhidrato de metformina para todos los tiempos
- El equipo se encarga de interpolar y dar los resultados.

4.5.2. Parámetros para la validación

La cuantificación de clorhidrato de metformina se realizó por espectrofotometría UV, conforme a los criterios establecidos de la NOM-177-SSA1-1998 cuyo objetivo es cumplir al menos con los siguientes parámetros:

Parámetros de validación de sistema

- Linealidad
- Precisión

Parámetros de validación de método

- Efecto del filtro
- Linealidad
- Exactitud como % de recobro
- Precisión evaluada como repetibilidad y reproducibilidad
- Estabilidad de la solución del estándar

4.5.3. Validación del sistema

4.5.3.1. Longitud de onda máxima

Realizar un barrido espectrofotométrico de clorhidrato de metformina, utilizando como blanco de ajuste una solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8 a fin de caracterizar su comportamiento y conocer su máximo de absorción.

4.5.3.2. Linealidad del sistema

Propósito

Verificar la habilidad del método para asegurar que la respuesta es proporcional a la concentración de clorhidrato de Metformina, parámetro al que de manera común se le denomina linealidad ⁽¹⁹⁾. Para este caso específico en términos analíticos se investiga la ley de Beer ⁽²⁰⁾, ley fundamental que indica una relación lineal entre la cantidad adicionada del analito y su respuesta, dentro de un intervalo del 20 % (111 µg/mL) al 120 % (666 µg/mL) de clorhidrato de Metformina, preparados por triplicado, a partir de una solución stock de clorhidrato de metformina, en un día y un analista, bajo las condiciones normales de operación.

Procedimiento

Preparar las soluciones estándares a concentraciones de 111, 222, 333, 444, 555 y 666 $\mu\text{g/mL}$. Tal y como se indica a continuación:

Preparación de la solución del estándar de referencia

Pesar con exactitud 555 mg de estándar de referencia de Clorhidrato de Metformina en una balanza analítica. Transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver con agitación magnética durante 10 minutos y diluir con una solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8, hasta la marca del aforo y mezclar bien. Concentración resultante es de 5550 $\mu\text{g/mL}$.

A partir de la solución anterior tomar las siguientes alícuotas y transferir a correspondientes matraces volumétricos. Diluir con una solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8, identificar cada muestra como se señala en el siguiente cuadro. Preparar por triplicado cada una de las concentraciones.

Tabla 8. Diluciones para la curva del estándar de clorhidrato de metformina

Alícuota (mL)	Volumen final (mL)	Concentración Absoluta ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración Relativa (%)	Identificación
1	50	111	20	LS20
2	50	222	40	LS40
3	50	333	60	LS60
4	50	444	80	LS80
5	50	555	100	LS100
6	50	666	120	LS120

Leer las soluciones por triplicado en el espectrofotómetro utilizando celdas de 0.05 mm a una longitud de onda de 233 nm y una solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8 como blanco de ajuste.

Información de reporte y cálculos

Reportar para cada solución estándar el promedio aritmético, la desviación estándar y el coeficiente de variación de la absorbancia de clorhidrato de Metformina

Para la relación concentración– absorbancia promedio de clorhidrato de Metformina calcular el valor de la pendiente, la ordenada en el origen, el coeficiente de determinación y el coeficiente de variación.

Criterios de aceptación: Se debe demostrar una linealidad del sistema con al menos cinco puntos (excepto el cero) por duplicado, con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor que el 2%.

4.5.3.3. Precisión del sistema

De los datos de linealidad se debe demostrar que el coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor que el 2%.

4.5.4. Validación del método

Validar el método analítico para los medicamentos de prueba y de referencia. Si se tienen disponibles los placebos de los medicamentos, realizar la validación mediante el porcentaje de recuperación; cuando no sea posible obtener los placebos del medicamento de prueba o del de referencia, realizar la validación mediante el método de estándar adicionado, esto es, agregar a cada medicamento cantidades conocidas del fármaco y determinar:

4.5.4.1. Evaluación de filtros

Este efecto se determina al comparar los resultados de seis datos de la solución de referencia, filtrada y sin filtrar, cuya diferencia en la respuesta no es mayor que el 2%.

Procedimiento

Preparar por sextuplicado, la solución del estándar de referencia del nivel que corresponde a la concentración de 555 $\mu\text{g/mL}$. Dividirla en dos partes, la primera parte depositar en tubos de ensaye para posteriormente leerlas en el espectrofotómetro. La segunda parte se filtraron por filtros de 35 μ desechando los primeros 2 ml.

Leer cada una de las soluciones filtradas así como las sin filtrar en el espectrofotómetro utilizando celdas de 0.05 mm a una longitud de onda de 233 nm y una solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8 como blanco de ajuste.

Cálculos: calcular el promedio, desviación estándar y el coeficiente de variación para las soluciones filtradas así como las que no se filtraron. Se determinó el % de diferencia por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ diferencia} = ((SD - SF) / SD) * 100$$

Donde:

SD = promedio de las soluciones directa

SF = promedio de las soluciones filtradas

Criterio de aceptación: La diferencia entre la solución filtrada y la solución sin filtrar no debe ser mayor del 2%

4.5.4.2. Linealidad Del Método

Propósito

Verificar la concordancia entre el valor experimental (cantidad recuperada de clorhidrato de Metformina) con su verdadero valor (cantidad adicionada de clorhidrato de metformina)⁽¹⁹⁾; además de establecer la capacidad de la metodología de mantener su exactitud a diferentes cantidades adicionadas del producto, parámetro denominado linealidad de método⁽²¹⁾, lo cual nos permite detectar la posible presencia de un error sistemático constante en el método. Por otro lado, como la evaluación de estos parámetros se lleva a cabo en las mismas condiciones de análisis y en un intervalo corto de tiempo, con esta información se puede establecer la repetibilidad como una medida de la precisión del método⁽²²⁾.

Procedimiento

La linealidad del método se evaluó utilizando un estándar adicionado mediante la estimación de la concentración de 5 puntos, en un rango de concentración de 111 – 666 µg/mL, preparados por triplicado, a partir de una solución de la muestra que contiene clorhidrato de Metformina, y de la adición de una concentración de 233 µg/mL del estándar de referencia, en un día y un analista, bajo las condiciones normales de operación.

Preparación de las soluciones a concentraciones de 111, 222, 333, 444, 555 Y 666 µg/mL. Tal y como se indica a continuación:

Preparación de la solución de la muestra

Pesar no menos de 20 tabletas, calcular su peso promedio, triturar hasta polvo fino en un mortero, de este polvo pesar con exactitud el equivalente a 555 mg de Clorhidrato de Metformina. Transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, adicionar 70 mL de una solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8, disolver con agitación magnética durante 10 minutos y diluir con una solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de

6.8, hasta la marca del aforo, mezclar y filtrar descartando los primeros 20 mL del filtrado. Concentración resultante es de 5550 $\mu\text{g/mL}$.

A partir de la solución anterior tomar las siguientes alícuotas y transferir a correspondientes matraces volumétricos. Diluir con la solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8, identificar cada muestra como se señala en el siguiente cuadro. Preparar por triplicado cada una de las concentraciones.

Tabla 9. Diluciones para la curva de la muestra.

Alícuota (mL)	Volumen final (mL)	Concentración Absoluta ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración Relativa (%)	Identificación
1	50	111	20	LM20
2	50	222	40	LM40
3	50	333	60	LM60
4	50	444	80	LM80
5	50	555	100	LM100
6	50	666	120	LM120

Preparación de la solución del estándar adicionado

De la solución del estándar de referencia (5550 $\mu\text{g/mL}$), tomar una alícuota constante de 2 mL y transferirla a los matraces volumétricos de 50 mL. Diluir con la solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8 y mezclar. Concentración resultante es de 222 $\mu\text{g/mL}$.

A partir de la solución de la muestra y de la solución del estándar adicionado tomar las siguientes alícuotas y transferir a correspondientes matraces volumétricos. Diluir con la solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8, identificar cada muestra como se señala en el siguiente cuadro. Preparar por triplicado cada una de las concentraciones.

Tabla 10. Diluciones para la curva del estándar adicionado.

Alicuota de la sol. De la muestra (mL)	Alicuota de la sol. Del estándar adicionado (mL)	Volumen final (mL)	Concentración Absoluta ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración Relativa (%)	Identificación
1	2	50	333	60	LME60
2	2	50	444	80	LME80
3	2	50	555	100	LME100
4	2	50	666	120	LME120
5	2	50	777	140	LME140
6	2	50	888	160	LME160

Leer las soluciones de las curvas de la muestra y curva del estándar adicionado en el espectrofotómetro utilizando celdas de 0.05 mm a una longitud de onda de 233 nm y una solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8 como blanco de ajuste.

Cálculos:

Graficar las absorbancias vs concentraciones de clorhidrato de metformina, calcular la regresión lineal de las curvas.

Criterio de aceptación:

El método debe demostrar una linealidad con al menos 5 puntos (que incluya los puntos extremos excepto el cero) por triplicado, con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor que el 3%.

4.5.4.3. Exactitud (como % de recobro)

Es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el por ciento de recobro obtenido del análisis de muestra a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

Procedimiento

Utilizar el promedio del porcentaje de la recuperación de los datos de linealidad del método en donde no debe variar con respecto a la cantidad nominal en más de 3% en cada punto.

Cálculos:

$$\% \text{ Recobro} = ((\text{Cantidad recuperada}/\text{Cantidad adicionada}) \times 100)$$

Criterio de aceptación: El promedio del % de recobro debe estar en el intervalo de 97-103 % y el CV no debe de ser mayor del 3%.

4.5.4.4. Repetibilidad

Es el grado de concordancia de medidas individuales de un proceso. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.

Se estimó a partir del coeficiente de variación del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad el cual no debe ser mayor al 3%.

4.5.4.5. Reproducibilidad

Consiste en evaluar el efecto de los eventos aleatorios en la precisión del método analítico, tales como los días, los analistas o los equipos.

Procedimiento

Realizar dos pruebas de disolución (n =12) por 1 analista en dos días diferentes para todos los lotes de los productos en prueba de acuerdo a las condiciones experimentales de la prueba.

Criterio de aceptación: El coeficiente de variación global no debe de ser mayor que el 3%.

4.5.4.6. Estabilidad de la solución estándar

Propósito

Verificar la reproducibilidad de los resultados de prueba en las diferentes condiciones de operación, analizando las soluciones de la muestra en diferentes intervalos de tiempo (5, 10, 15, 20, 30, 45 y 60 min.)

La información generada en este tipo de estudios permite establecer el tiempo máximo de análisis de una muestra procesada en una etapa específica del método analítico.

Procedimiento

Preparar la solución del estándar de referencia a una concentración de 555 µg/mL. Tal y como se indica a continuación:

Pesar con exactitud 55.5 mg de estándar de referencia de Clorhidrato de Metformina en una balanza analítica. Transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver con agitación magnética durante 10 minutos y diluir con una solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8, hasta la marca del aforo y mezclar bien. Preparar por triplicado. Concentración resultante es de 555 µg/mL.

Fraccionar en 2 partes, una se protegerá de la luz y la otra quedará expuesta a la luz.

Tabla 11. Condiciones de Estabilidad.

Condiciones	Tiempo (minutos)						
	5	10	15	20	30	45	60
Temperatura ambiente con luz	5	10	15	20	30	45	60
Temperatura ambiente sin luz	5	10	15	20	30	45	60

Leer las soluciones en el espectrofotómetro al momento de su preparación y a los 5, 10, 15, 20, 30, 45, y 60 minutos utilizando celdas de 0.05 mm a una longitud de onda de 233 nm y utilizar la solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8 como blanco de ajuste.

Cálculos

Determinar el promedio y la desviación estándar de las muestras por tiempo y % de recobro.

$$\% \text{ Recobro} = \left(\frac{A_{st}}{A_{st_0}} \right) * 100$$

A_{st}= Absorbancia del estándar

A_{st₀}= Absorbancia del estándar inicial

I

Información del reporte y cálculos:

Reportar el ensayo inicial como ensayo a tiempo 0, el ensayo a $t= 5, 10, 15, 20, 30, 45,$ y a $t= 60$ minutos.

Calcular el promedio aritméticos a cada tiempo.

Calcular la diferencia del promedio aritmético de los ensayos a $t= 5, 10, 15, 20, 30, 45$ y a $t=60$, respecto a $t=0$.

Criterios de aceptación: La diferencia del promedio aritmético de los ensayos a $t= 5, 10, 15, 20, 30, 45$ y a $t=60$ no debe de exceder el $\pm 2\%$, respecto a $t=0$.

4.6. PERFIL DE DISOLUCIÓN

Condiciones del disolutor:

Aparato: aparato II (paletas)

Medio de disolución: solución de fosfato de potasio monobásico 0.68% con pH de 6.8

Volumen del medio: 900 mL.

Velocidad: 100 rpm.

Temperatura: 37°C ± 0.5°C

Tiempos de muestreo: 10, 15, 20, 30, 45, 60, minutos.

Metodología:

- 1) Encender el equipo (disolutor y espectrofotómetro) automatizado.
- 2) Lavar las líneas y celdas con agua purificada
- 3) Colocar en cada vaso 900 mL del medio de disolución ya desgasificado evitando burbujas al depositar el medio.
- 4) Revisar la temperatura y las revoluciones hasta que se estabilice el equipo.
- 5) Programar el equipo con datos de los productos en prueba y se da el arranque.
- 6) Agregar las tabletas cuando el equipo indique.
- 7) Dejar correr hasta el término de la disolución.
- 8) El equipo se encarga de interpolar y dar los resultados.

Cálculos:

Con el % disuelto de cada tiempo se determina su promedio, desviación estándar y % CV para las doce unidades estudiadas.

Calcular el factor de similitud (f) con la siguiente formula:

$$f = 50 \text{ Log } \{ [1 + (1/n) \sum (Rt - Pt)^2]^{-0.5} \} \times 100$$

t=1

Donde:

n = número de tiempos de muestreo.

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

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

Un factor de similitud entre 50 y 100 indica perfiles de disolución similares.

5. RESULTADOS

5.1. Resumen de resultados de la validación de la disolución

Se realizó la validación del método analítico para la determinación de Clorhidrato de Metformina en tabletas por espectrofotometría UV, para evaluar la confiabilidad del método de disolución. En la siguiente tabla se encuentran los parámetros que se evaluaron y los resultados.

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS																																																											
Linealidad del sistema	Coeficiente de determinación $r^2 \geq 0.98$ Coeficiente de correlación $r \geq 0.99$ Error debido a la regresión $CV \leq 2.0\%$	0.99981 0.99964 0.97%																																																											
Precisión	CV del factor respuesta $CV \leq 2.0\%$	1.06%																																																											
Linealidad del método	Coeficiente de correlación $r \geq 0.99$ Coeficiente de determinación $r^2 \geq 0.99$ Error debido a la regresión $CV \leq 3.0\%$	Resultados de la linealidad del método sin estándar adicionado <table border="1" style="margin: 10px auto;"> <thead> <tr> <th>A</th> <th>B</th> <th>C</th> <th>D</th> <th>E</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.9998</td> <td>0.9999</td> <td>0.9999</td> <td>0.9999</td> <td>0.9999</td> </tr> <tr> <td>0.9996</td> <td>0.9999</td> <td>0.9999</td> <td>0.9998</td> <td>0.9999</td> </tr> <tr> <td>0.991%</td> <td>0.480%</td> <td>0.198%</td> <td>0.684%</td> <td>0.510%</td> </tr> </tbody> </table> Resultados de la linealidad del método con estándar adicionado <table border="1" style="margin: 10px auto;"> <thead> <tr> <th>A</th> <th>B</th> <th>C</th> <th>D</th> <th>E</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.9998</td> <td>0.9998</td> <td>0.9997</td> <td>0.9999</td> <td>0.9999</td> </tr> <tr> <td>0.9996</td> <td>0.9996</td> <td>0.9994</td> <td>0.9998</td> <td>0.9998</td> </tr> <tr> <td>0.625%</td> <td>0.610%</td> <td>0.765%</td> <td>0.3652%</td> <td>0.33%</td> </tr> </tbody> </table>	A	B	C	D	E	0.9998	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	0.9996	0.9999	0.9999	0.9998	0.9999	0.991%	0.480%	0.198%	0.684%	0.510%	A	B	C	D	E	0.9998	0.9998	0.9997	0.9999	0.9999	0.9996	0.9996	0.9994	0.9998	0.9998	0.625%	0.610%	0.765%	0.3652%	0.33%																			
A	B	C	D	E																																																									
0.9998	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999																																																									
0.9996	0.9999	0.9999	0.9998	0.9999																																																									
0.991%	0.480%	0.198%	0.684%	0.510%																																																									
A	B	C	D	E																																																									
0.9998	0.9998	0.9997	0.9999	0.9999																																																									
0.9996	0.9996	0.9994	0.9998	0.9998																																																									
0.625%	0.610%	0.765%	0.3652%	0.33%																																																									
Precisión evaluada como Repetibilidad y Exactitud	97 - 103 % Coeficiente de variación $< 3\%$	<table border="1" style="margin: 10px auto;"> <thead> <tr> <th>A</th> <th>B</th> <th>C</th> <th>D</th> <th>E</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>100.38%</td> <td>99.94%</td> <td>99.9%</td> <td>100.81%</td> <td>99.97%</td> </tr> <tr> <td>0.6%</td> <td>0.56%</td> <td>0.68</td> <td>0.29%</td> <td>0.45%</td> </tr> </tbody> </table>	A	B	C	D	E	100.38%	99.94%	99.9%	100.81%	99.97%	0.6%	0.56%	0.68	0.29%	0.45%																																												
A	B	C	D	E																																																									
100.38%	99.94%	99.9%	100.81%	99.97%																																																									
0.6%	0.56%	0.68	0.29%	0.45%																																																									
Reproducibilidad	Coeficiente de variación $< 3\%$	<table border="1" style="margin: 10px auto;"> <thead> <tr> <th colspan="2">A</th> <th colspan="2">B</th> <th colspan="2">C</th> <th colspan="2">D</th> <th colspan="2">E</th> </tr> <tr> <th>A1</th> <th>A2</th> <th>B1</th> <th>B2</th> <th>C1</th> <th>C2</th> <th>D1</th> <th>D2</th> <th>E1</th> <th>E2</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.68</td> <td>1.1</td> <td>1.2</td> <td>0.76</td> <td>0.11</td> <td>0.1</td> <td>0.43</td> <td>0.04</td> <td>0.44</td> <td>0.82</td> </tr> </tbody> </table>	A		B		C		D		E		A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2	0.68	1.1	1.2	0.76	0.11	0.1	0.43	0.04	0.44	0.82																													
A		B		C		D		E																																																					
A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2																																																				
0.68	1.1	1.2	0.76	0.11	0.1	0.43	0.04	0.44	0.82																																																				
Estabilidad de la muestra en solución	97 - 103 % Espectrofotométrico Coeficiente de variación $CV \leq 2.0\%$	<table border="1" style="margin: 10px auto;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Tiempo minutos</th> <th colspan="2">T. Ambiente sin Luz</th> <th colspan="2">T. Ambiente con Luz</th> </tr> <tr> <th>% Recobro</th> <th>Diferencia</th> <th>% Recobro</th> <th>Diferencia</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>inicial</td> <td>100.0</td> <td></td> <td>100.0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>100.07</td> <td>0.07</td> <td>100.10</td> <td>0.1</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>100.05</td> <td>0.05</td> <td>100.10</td> <td>0.1</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>100.57</td> <td>0.57</td> <td>99.88</td> <td>0.2</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>100.22</td> <td>0.22</td> <td>100.10</td> <td>0.1</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>100.15</td> <td>0.15</td> <td>100.00</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>45</td> <td>100.05</td> <td>0.05</td> <td>100.05</td> <td>0.05</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>100.12</td> <td>0.12</td> <td>100.07</td> <td>0.07</td> </tr> <tr> <td>Promedio</td> <td>100.18</td> <td>0.176</td> <td>100.04</td> <td>0.09</td> </tr> <tr> <td>CV</td> <td>0.18</td> <td>0.18</td> <td>0.08</td> <td>0.06</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo minutos	T. Ambiente sin Luz		T. Ambiente con Luz		% Recobro	Diferencia	% Recobro	Diferencia	inicial	100.0		100.0		5	100.07	0.07	100.10	0.1	10	100.05	0.05	100.10	0.1	15	100.57	0.57	99.88	0.2	20	100.22	0.22	100.10	0.1	30	100.15	0.15	100.00	0	45	100.05	0.05	100.05	0.05	60	100.12	0.12	100.07	0.07	Promedio	100.18	0.176	100.04	0.09	CV	0.18	0.18	0.08	0.06
Tiempo minutos	T. Ambiente sin Luz			T. Ambiente con Luz																																																									
	% Recobro	Diferencia	% Recobro	Diferencia																																																									
inicial	100.0		100.0																																																										
5	100.07	0.07	100.10	0.1																																																									
10	100.05	0.05	100.10	0.1																																																									
15	100.57	0.57	99.88	0.2																																																									
20	100.22	0.22	100.10	0.1																																																									
30	100.15	0.15	100.00	0																																																									
45	100.05	0.05	100.05	0.05																																																									
60	100.12	0.12	100.07	0.07																																																									
Promedio	100.18	0.176	100.04	0.09																																																									
CV	0.18	0.18	0.08	0.06																																																									

5.2. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD

5.2.1. Identidad

Los espectros de los productos de prueba presentaron los mismos máximos y mínimos que el espectro de referencia.

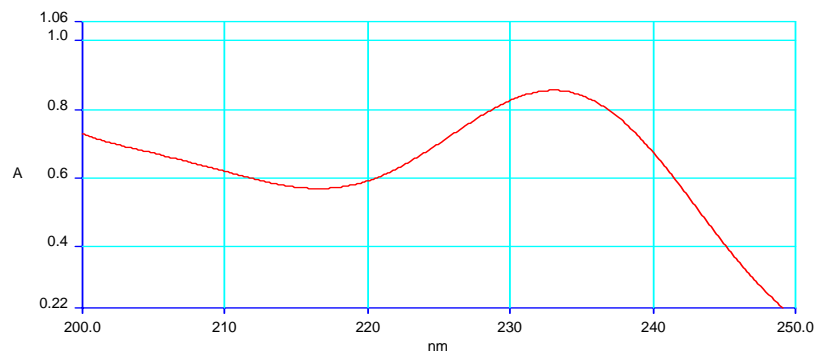


Figura 5. Espectro de la sustancia de referencia de clorhidrato de metformina

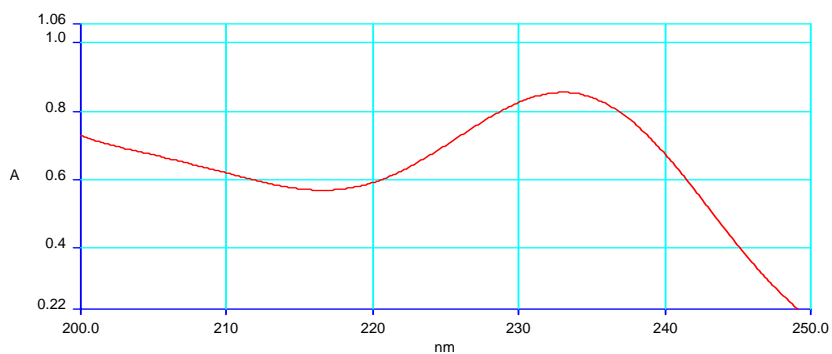


Figura 6. Espectro del producto A

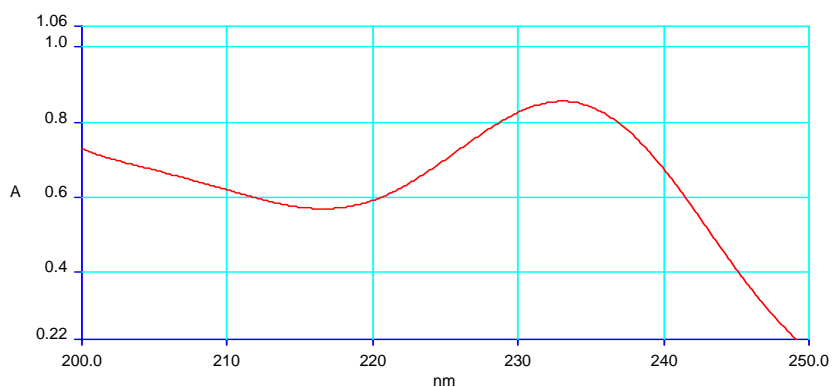


Figura 7. Espectro del producto B

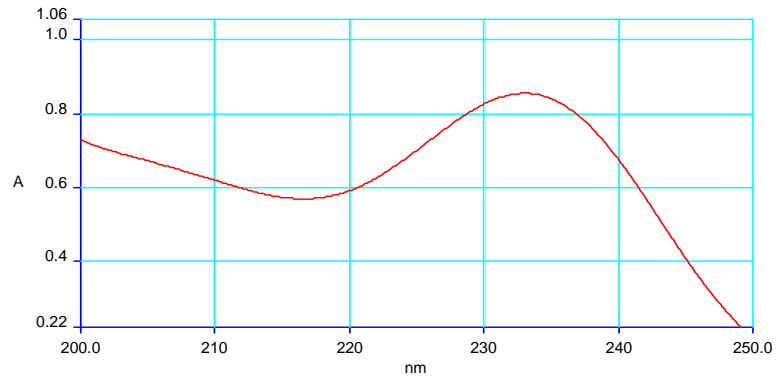


Figura 8. Espectro del producto C

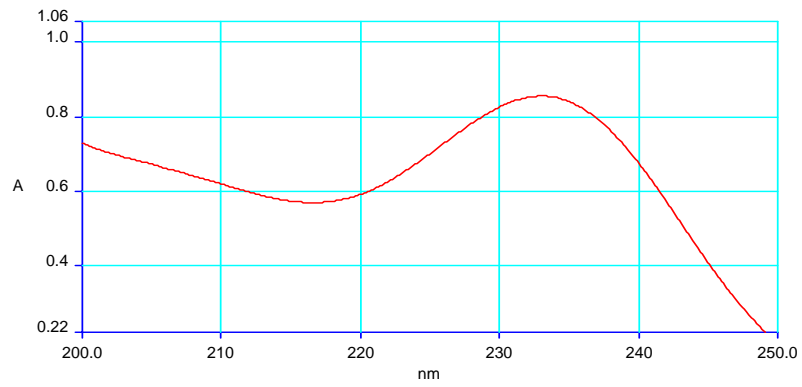


Figura 9. Espectro del producto D

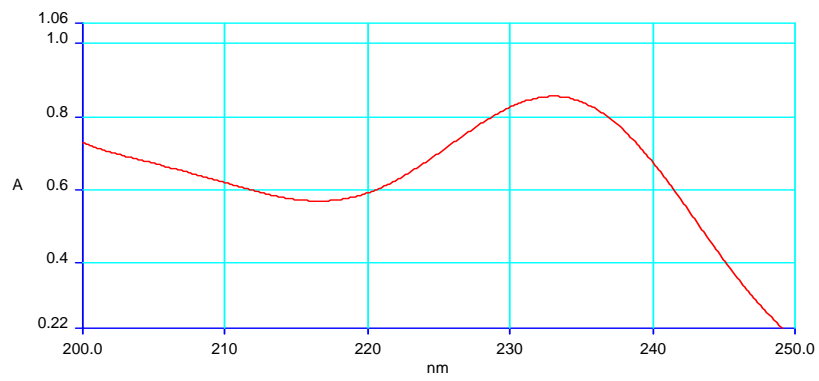


Figura 10. Espectro del producto E

5.2.2. Valoración

En la siguiente tabla se presentan los resultados de las valoraciones de los productos en prueba.

Tabla 13. Resultados de valoración.

Producto	A %	B %	C %	D %	E %
Lote 1	94	97.2	95.6	98.3	97.1
Lote 2	95	94.4	95	97.2	98.5

5.2.3. Uniformidad de dosis

En la siguiente tabla se presentan los resultados de la uniformidad de dosis de los productos en prueba.

Tabla 14. Resultados de uniformidad de dosis.

Producto	A		B		C		D		E	
Lote	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2
Unidad	%									
1	95.9	94.1	95.6	94.1	95.7	95.2	99.3	96.14	96.9	99.0
2	95.0	93.5	98.1	95.2	95.3	95.2	98.2	99.04	97.1	96.8
3	95.8	95.4	98.3	94.5	95.3	95.3	98.1	95.9	96.5	97.33
4	94.0	93	98.4	94.0	95.8	94.5	99.7	95.8	97.8	98.5
5	95.4	93.6	97.5	92.9	95.5	95.2	97.8	98.5	96.5	99.46
6	95.2	93.9	97.6	94.7	95.6	94.9	98.4	98.9	96.8	98.85
7	94.9	93.4	97.4	94.2	95.8	94.7	97.4	95.8	98.2	98.5
8	95.2	95.6	95.6	94.2	95.7	94.7	98.1	95.9	97.9	98.7
9	94.8	93.6	95.6	94.1	95.2	94.7	98.6	98.8	97.3	99.11
10	95.1	94	96	93.7	96.3	95.0	98.3	95.9	96.9	98.7
Promedio	95.1	94	97.01	94.14	96.62	94.9	98.4	97.07	97.3	98.5
CV	0.6	0.9	1.2	0.7	0.4	0.3	0.7	1.54	0.6	0.83

5.3. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO DE DISOLUCION DE CLORHIDRATO DE METFORMINA

5.3.1. Validación del sistema

5.3.1.1. Linealidad

En la tabla 15 se presentan los resultados correspondientes a la linealidad del sistema y en la figura 11 se muestra la grafica correspondiente.

Tabla 15. Resultados de la linealidad del sistema

Concentración (mg/mL)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio	D.E	C.V %
0.111	0.0444	0.0448	0.0448	0.04466	0.00023	0.5173
0.222	0.0903	0.0908	0.0903	0.09046	0.00029	0.3191
0.333	0.1329	0.1332	0.1329	0.13300	0.00017	0.1302
0.444	0.1818	0.1818	0.1816	0.18173	0.00012	0.0635
0.555	0.2273	0.2272	0.2275	0.22733	0.00015	0.0672
0.666	0.2695	0.2710	0.2701	0.27020	0.00080	0.2790
Parámetros de regresión						
m	0.4081	0.4078	0.4096	0.4085	0.00096	0.23607
b	0.0008	0.0004	0.0011	-0.0008	0.00035	0.00000
r	0.9998	0.9998	0.9998	0.9998	0.00000	0.00000
r ²	0.9997	0.9997	0.9997	0.9997	0.00000	0.00000

Error debido a la regresión = 0.9771 %

En la siguiente figura se observa que existe una relación lineal entre las variables.

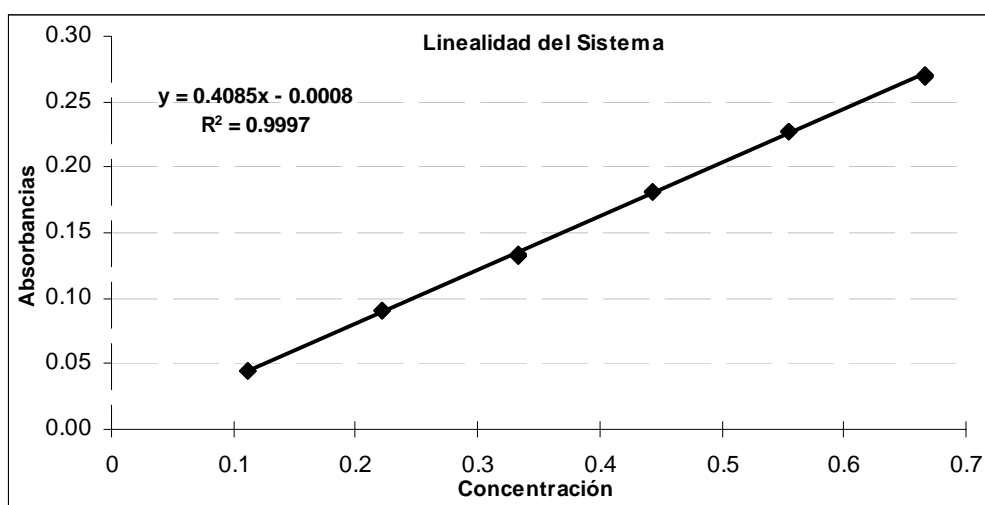


Figura 11. Curva de la linealidad de sistema

5.3.1.2. Precisión

Se estimó a partir de la curva de calibración de la linealidad del sistema demostrando que el coeficiente de variación del factor respuesta fue menor al 2 %.

Tabla 16. Resultados de precisión (CV del factor respuesta)

Sistema	Concentración (mg/mL)	Absorbancia	Factor respuesta
1	0.111	0.0444	0.40
2	0.111	0.0448	0.40
3	0.111	0.0448	0.40
4	0.222	0.0903	0.41
5	0.222	0.0908	0.41
6	0.222	0.0903	0.41
7	0.333	0.1329	0.40
8	0.333	0.1332	0.40
9	0.333	0.1329	0.40
10	0.444	0.1818	0.41
11	0.444	0.1818	0.41
12	0.444	0.1816	0.41
13	0.555	0.2273	0.41
14	0.555	0.2272	0.41
15	0.555	0.2275	0.41
16	0.666	0.2695	0.40
17	0.666	0.2701	0.41
18	0.666	0.2710	0.41
Promedio			0.41
desv. estándar			0.004
CV			0.97%

5.3.2. Validación del método

5.3.2.1. Efecto del filtro

Los resultados de obtenidos del efecto del filtro se presentan a continuación:

Tabla 17. Efecto del filtro

# de muestra	Directa	Filtrada
1	0.4040	0.4080
2	0.4051	0.4080
3	0.4038	0.4079
4	0.4035	0.4080
5	0.4035	0.4076
6	0.4034	0.4078
Promedio	0.4039	0.4079
D.E.	0.00058	0.00015
C.V. %	0.14	0.04
Diferencia %	0.9904	

5.3.2.2. Linealidad del método

Los resultados obtenidos en la linealidad del método por la técnica del estándar adicionado se presentan a continuación:

Tabla 18. Resultados de la linealidad del método sin estándar adicionado

Producto	A	B	C	D	E
m	0.3963	0.3959	0.3999	0.4008	0.4002
b	0.0018	0.0004	0.0003	0.0011	0.0016
r	0.9998	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
r ²	0.9996	0.9999	0.9999	0.9998	0.9999
Error	0.991%	0.480%	0.198%	0.684%	0.510%

Tabla 19. Resultados de la linealidad del método con estándar adicionado

Producto	A	B	C	D	E
m	0.3958	0.4053	0.3994	0.3997	0.4001
b	0.0025	0.0018	0.0039	0.0016	0.0049
r	0.9998	0.9998	0.9997	0.9999	0.9999
r ²	0.9996	0.9996	0.9994	0.9998	0.9998
Error	0.625%	0.61%	0.765%	0.3652%	0.33%

Graficas representativas de la linealidad del método y estándar adicionado de los productos en estudio:

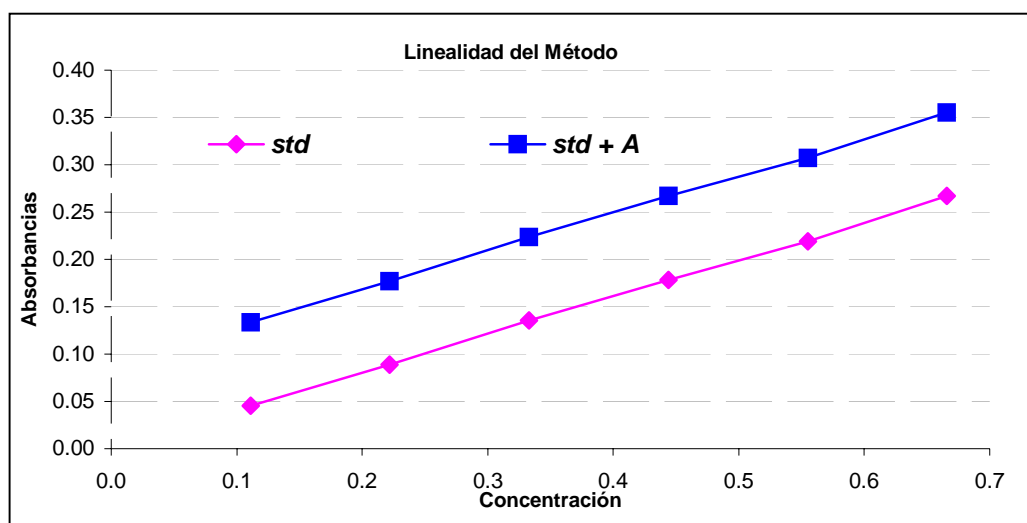


Figura 12. Linealidad del método analítico del producto A

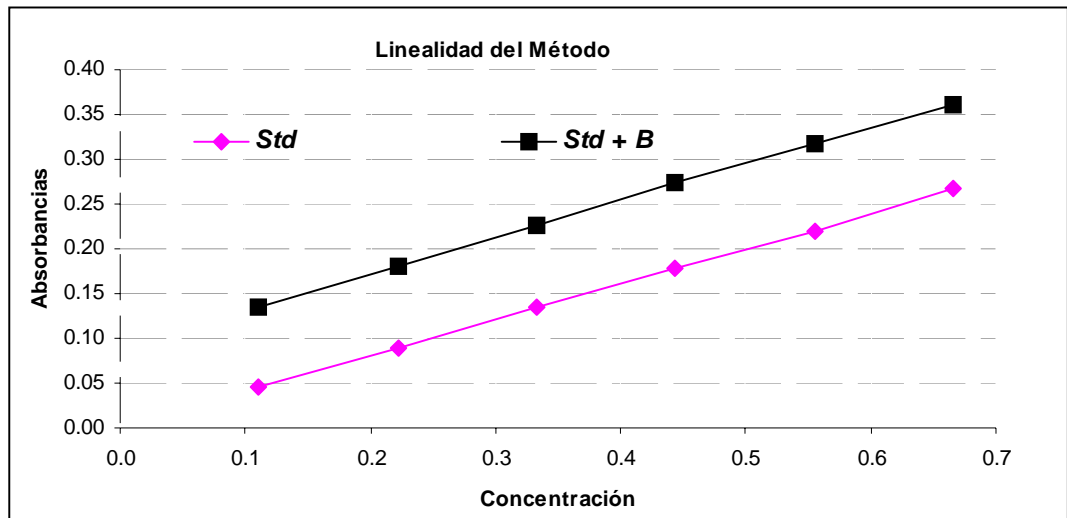


Figura 13. Linealidad del método analítico del producto B

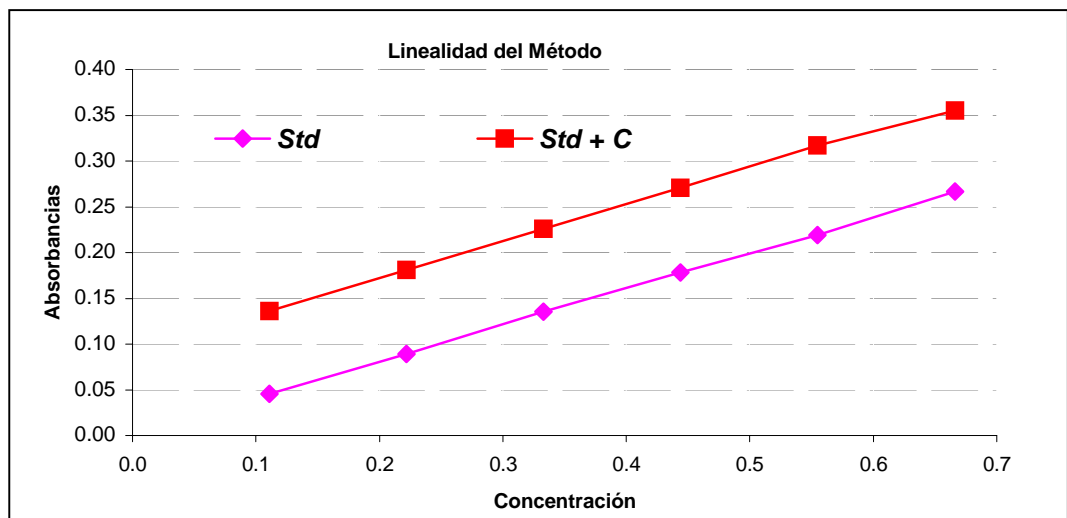


Figura 14. linealidad del método analítico del producto C

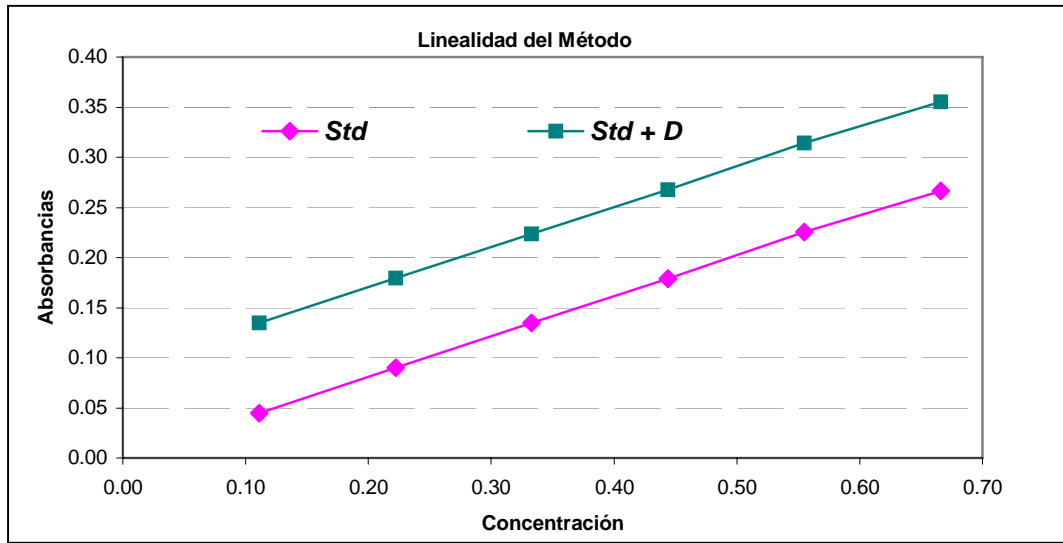


Figura 15. Linealidad del método analítico del producto D

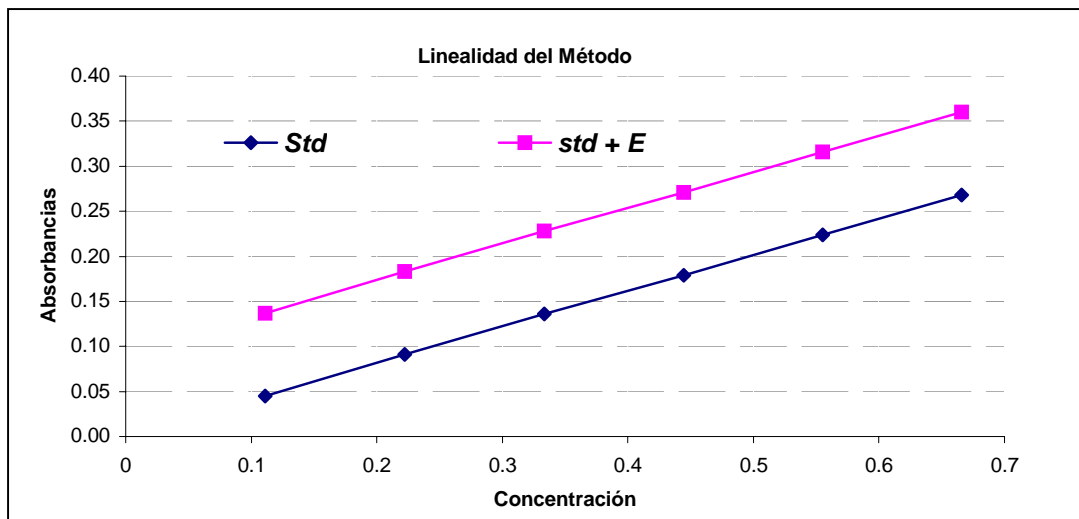


Figura 16. Linealidad del método analítico del producto E

5.3.2.3. Exactitud y Precisión del Método

La precisión (repetibilidad) se evaluó mediante el coeficiente de variación del porcentaje de recobro de los datos de linealidad el cual fue menor al 3%. La exactitud se evaluó mediante el promedio de porcentaje de recobro de los datos de las linealidad, los cuales estuvieron por debajo del 3% en cada punto además se encontraron en el intervalo de 97-103 % de recobro. Los resultados son mostrados a continuación:

Tabla 20. Resultados de exactitud y precisión del método.

Producto	A	B	C	D	E
% de recuperación	100.38	99.94	99.9	100.81	99.97
D.E	0.6	0.559	0.675	0.293	0.453
CV. %	0.6	0.56	0.68	0.29	0.45

5.3.2.4. Reproducibilidad

Tabla 21. Resultados de las disoluciones en diferentes días

Producto	A		B		C		D		E	
	Promedio del % Disolución		Promedio del % Disolución		Promedio del % Disolución		Promedio del % Disolución		Promedio del % Disolución	
Lote	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2
DIA 1	93.07	97.3	94.68	96.93	97.42	97.08	95.65	95.0	96.47	97.62
DIA 2	93.97	98.82	96.35	95.90	97.27	97.23	95.07	94.95	97.07	96.5
Promedio	93.52	98.06	95.52	96.42	97.35	97.16	95.36	94.98	96.77	97.06
DER	0.636	1.074	1.18	0.728	0.106	0.106	0.41	0.035	0.424	0.792
CV.	0.680	1.096	1.24	0.755	0.109	0.104	0.43	0.037	0.44	0.816

5.3.2.5. Estabilidad

Tabla 22. Resultados de la estabilidad de la solución estándar.

Tiempo	Temperatura Ambiente con Luz			Temperatura Ambiente sin Luz		
	Abs	% Recobro	Diferencia	Abs	% Recobro	Diferencia
inicial	0.4053	100.0		0.4053	100.0	
5	0.4056	100.07	0.07	0.4057	100.10	0.1
10	0.4058	100.05	0.05	0.4061	100.10	0.1
15	0.4081	100.57	0.57	0.4056	99.88	0.2
20	0.409	100.22	0.22	0.406	100.10	0.1
30	0.4096	100.15	0.15	0.406	100.00	0
45	0.4098	100.05	0.05	0.4062	100.05	0.05
60	0.4103	100.12	0.12	0.4065	100.07	0.07
Promedio	0.4100	100.18	0.18	0.4100	100.04	0.09
D.E.	0.00	0.18	0.18	0.00	0.08	0.06

5.4. RESULTADOS DE LOS PERFILES DE DISOLUCIÓN.

La siguiente tabla 23 muestra el % disuelto contra el tiempo, de los productos en estudio que contienen como activo Clorhidrato de Metformina.

Tabla 23. % Disuelto contra tiempo de los productos en estudio.

Producto	A		B		C		D		E	
Lote	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2
Tiempo	%									
10	37.46 (6.47)	38.76 (7.13)	76.48 (20.27)	71.80 (11.91)	96.89 (6.21)	97.90 (6.00)	69.94 (6.54)	70.3 (7.01)	45.25 (5.12)	45.28 (7.8)
15	50.66 (8.46)	51.66 (8.43)	92.38 (7.57)	91.84 (6.88)	96.95 (6.28)	97.05 (6.12)	90.68 (6.06)	90.4 (6.34)	60.37 (5.60)	58.98 (8.66)
20	62.85 (9.05)	63.72 (9.01)	94.92 (7.00)	95.28 (6.41)	96.94 (6.28)	97.13 (6.56)	94.85 (5.89)	95.3 (5.78)	75.33 (5.93)	71.15 (8.97)
30	84.46 (9.06)	86.08 (8.20)	95.05 (7.15)	95.86 (7.04)	96.90 (6.25)	97.29 (6.00)	95.16 (5.86)	95.6 (5.70)	92.44 (5.91)	92.39 (7.34)
45	93.49 (5.50)	97.75 (6.30)	95.23 (7.07)	96.27 (7.57)	96.99 (6.21)	97.56 (5.89)	95.35 (5.83)	95.65 (5.69)	96.2 (5.70)	101.43 (6.12)
60	93.52 (5.54)	98.06 (6.19)	95.52 (7.10)	96.42 (7.37)	97.16 (6.17)	97.86 (5.88)	95.36 (6.08)	95.7 (5.68)	97.06 (5.7)	101.65 (6.4)

Nota: Los números dentro de los paréntesis indican el coeficiente de variación.

5.4.1. Perfil de disolución de todos los productos en prueba

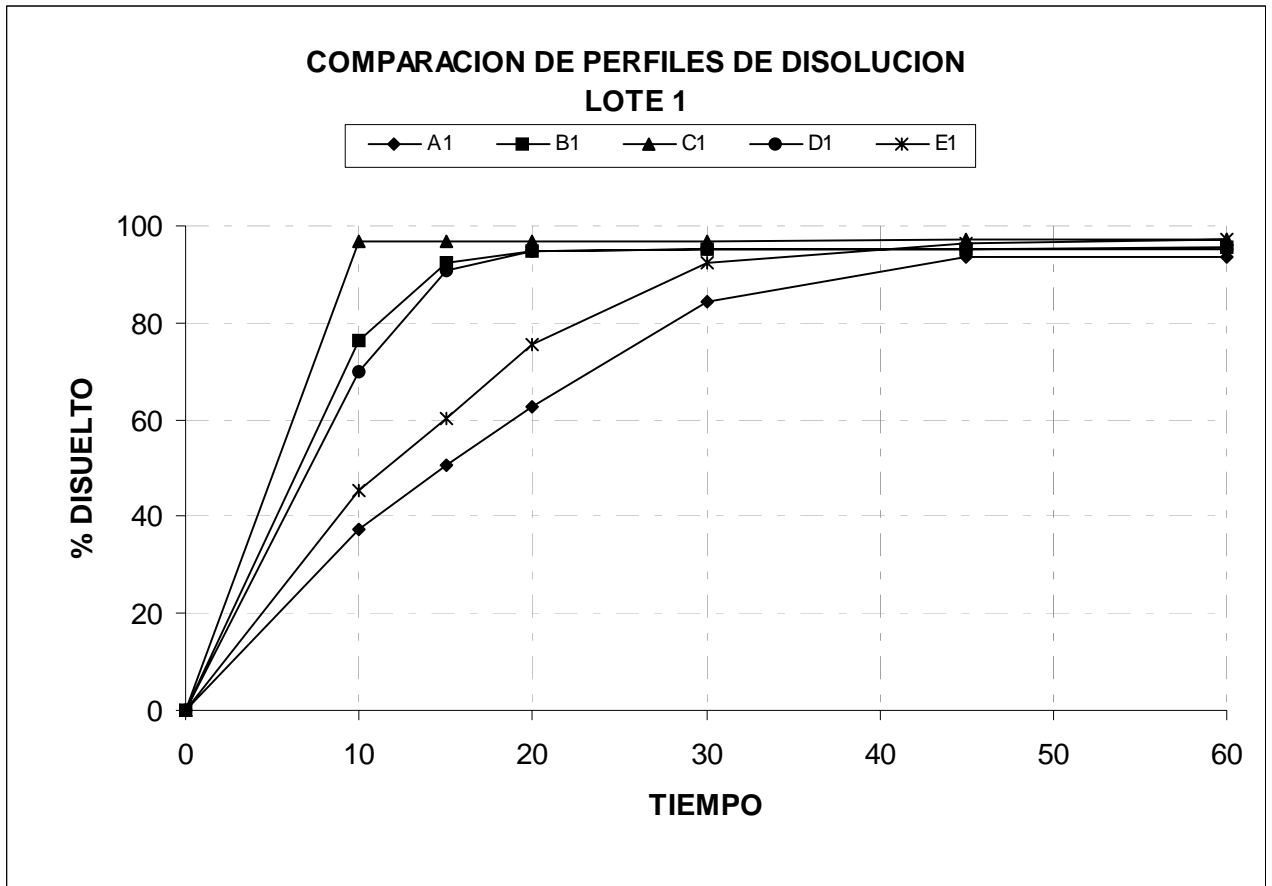


Figura 17. Perfiles de disolución de los productos en estudio. (LOTE 1)

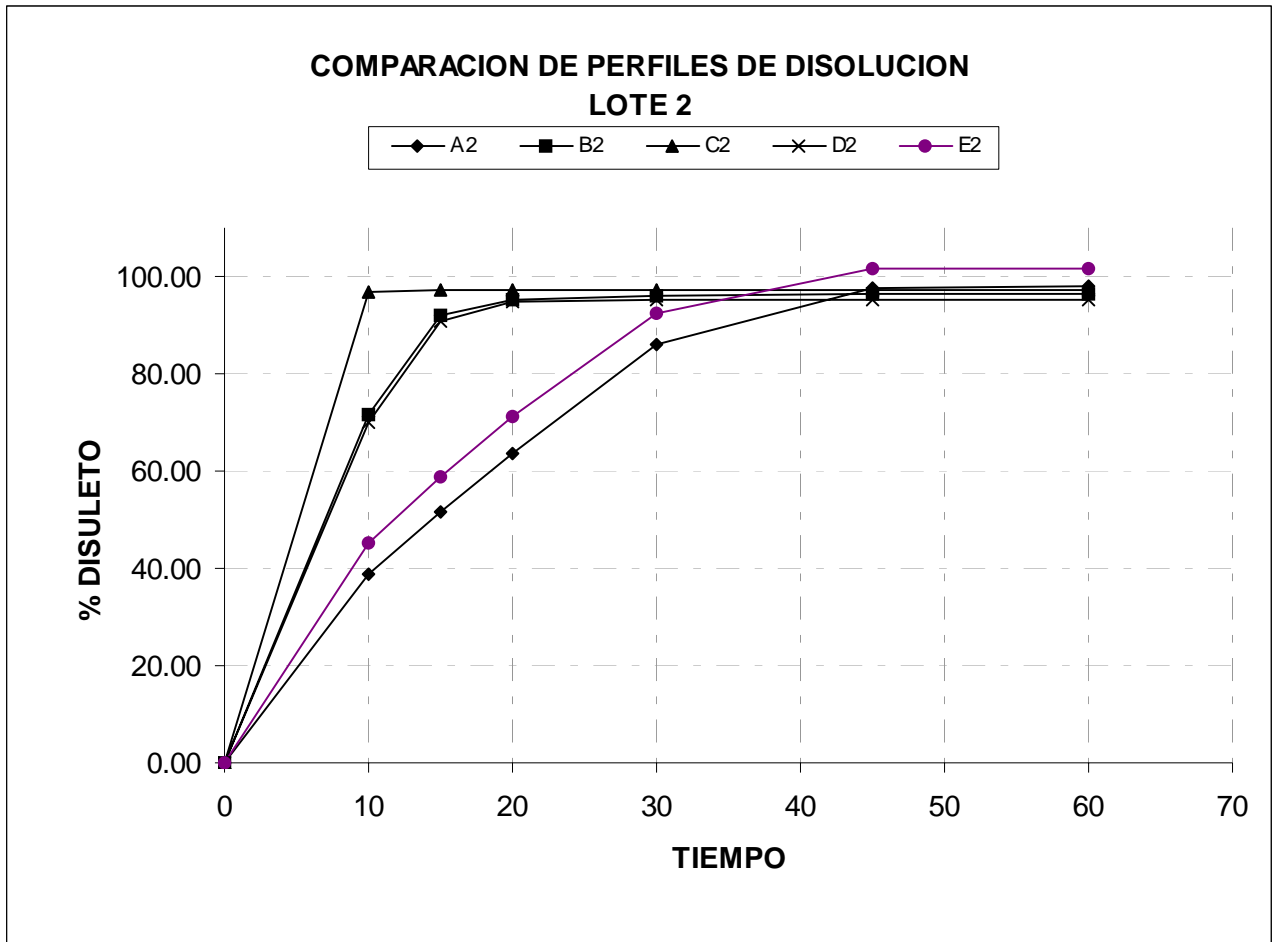


Figura 18. Perfiles de disolución de los productos en estudio. (LOTE 2)

5.4.2. Factor de similitud

CÁLCULO DEL FACTOR DE SIMILITUD

$$f = 50 \text{ Log } \{ [1 + (1/n) \Sigma (Rt - Pt)^2]^{-0.5} \} \times 100$$

n = Número de tiempos de muestreo.

Rt = Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de referencia.

Pt = Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de prueba.

FACTOR DE SIMILITUD

Tabla 24. Valores del factor de similitud

Clave del Producto	Factor de similitud
B1	28.99
B2	29.93
C1	23.87
C2	23.85
D1	30.65
D2	30.55
E1	57.42
E2	60.71

6. ANALISIS DE RESULTADOS

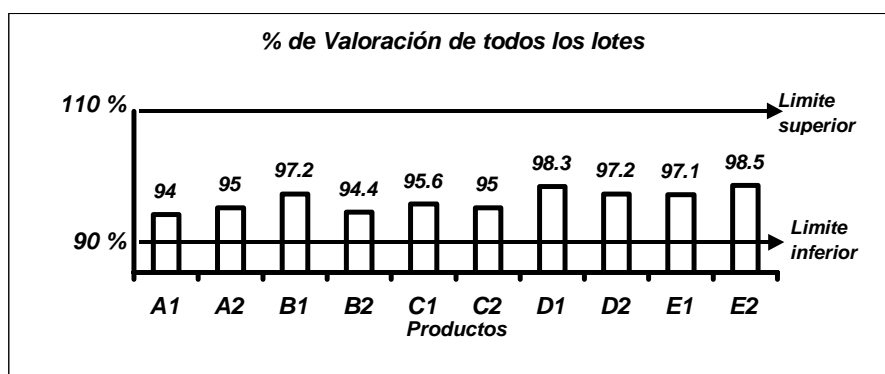
6.1. De control de calidad

Identidad y Valoración

Los resultados obtenidos de los 10 lotes en el estudio para la prueba de identidad y valoración todos los lotes cumplen con la especificación para dicha prueba, ya que el pico de las muestras corresponde al del estándar y porcentaje del ingrediente activo se encuentre entre el 90% y 110%.

También cabe mencionar que todos los productos en prueba tuvieron un comportamiento diferente en cuestión de solubilidad y comportamiento durante la realización experimental.

En la grafica1. Se observan a todos los productos que están dentro y fuera de los límites indicados en las especificaciones de recuperación.

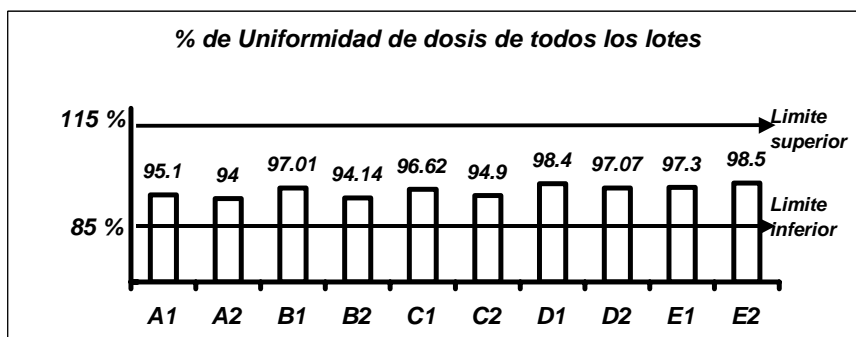


Grafica 1. % de la valoración

Uniformidad de dosis

Para los resultados de la uniformidad de dosis, analizados como uniformidad de contenido todos los productos cumplen ya que se encuentra dentro en el rango del 85% al 115%.

En la grafica 2 se observan a todos los productos que están dentro del rango indicados anteriormente.



Grafica 2. % de la uniformidad de dosis (como uniformidad de contenido)

6.2. Validación del método analítico

6.2.1. Validación del sistema

6.2.1.1. Linealidad y precisión del sistema

Los resultados de la tabla 15, nos demuestran que las tres curvas cumplieron ya que demostraron tener un coeficiente de regresión mayor a 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 2% en el intervalo de concentración de 111 a 666 mcg/mL.

En la tabla 16, se puede apreciar que la precisión del sistema cumplió ya que se demostró que el coeficiente de variación del factor respuesta fue no mayor al 2%.

6.2.2. Validación del método

6.2.2.1. Efecto del filtro

En la tabla 17 se aprecia que no existe diferencia significativa entre las absorbancias de las soluciones filtradas y de las soluciones directas ya que el porcentaje de diferencia fue menor al 2% por lo tanto cumple con la prueba.

6.2.2.2. Linealidad del método

La linealidad del método se realizó por el método de estándar adicionado para los 5 productos comerciales.

Las curvas del método de cada producto y con estándar adicionado fueron lineales para los 5 productos ya que su coeficiente de correlación fue mayor al 0.99 con un error relativo debido a la regresión menor al 3% como se puede observar en la tabla 18 y 19.

6.2.2.3. Exactitud y precisión del método

La exactitud (% de recobro) cumplió para todos los productos ya que todos se encontraron entre el rango de 97-103% como se indica en la tabla 20. La precisión cumplió ya que el %CV del promedio del porcentaje de recobros de cada producto es menor a 3%.

6.2.2.4. Reproducibilidad

La reproducibilidad se llevo a cabo por un analista en dos días diferentes para todos los lotes de prueba como se indica en la tabla 21, pasando la prueba debido a que el % CV fue menor al 3%.

6.2.2.5. Estabilidad del Estándar

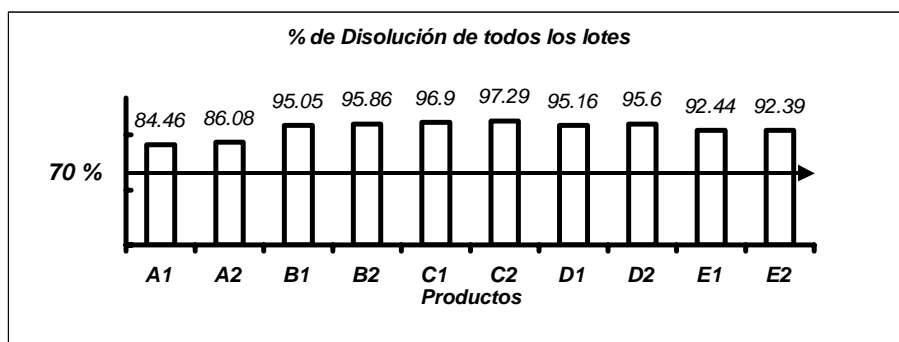
Los resultados de la tabla 22 para la determinación de la estabilidad de Clorhidrato de Metformina en diferentes condiciones nos indican: Que es estable durante 60 minutos a temperatura ambiente con luz y sin luz garantizando que durante las pruebas de perfil de disolución no existirá degradación significativa para el principio activo.

6.3. Perfiles de disolución

Para iniciar el estudio comparativo, se evaluó un perfil de disolución del innovador con la finalidad de establecer los tiempos de muestreo para este proyecto, debido a lo establecido en la NOM – 177-SSA1-1998 en donde se solicita que el perfil de disolución cuente por lo menos con 5 puntos que permitan caracterizar la curva ascendente (3 puntos) y la fase meseta (2 puntos). Los tiempos establecidos en donde el innovador presenta una buena caracterización en la curva son a los 10, 15, 20, 30, 45 y 60 minutos.

Una de las pruebas que se tiene que cumplir para seguir con la comparación entre el producto innovador y los de prueba es la disolución en donde $Q = 70\%$ a los 30 minutos en este caso todos los productos cumplieron.

En la grafica 3. Se observa que todos los lotes pasan disolución debido a que están por arriba de $Q = 70\%$.



Grafica 3. % de disolución de todos los lotes.

En la figura 17 y 18 se puede observar el comportamiento de cada uno de los productos sometidos a la prueba de perfil de disolución. En el caso de los productos B, C y D se liberan más rápido que el innovador (A) y el E se observa que tiene el mismo comportamiento que el innovador.

6.3.1. Similitud entre los innovadores

Para poder calcular el factor de similitud de todos los lotes de prueba contra el innovador. Primero se realizó el cálculo de similitud entre los dos lotes del producto innovador, para determinar que no existiera diferencia entre estos.

Tabla 25. Factor de similitud entre innovadores

Tiempo min.	% Disuelto	
	A1	A2
10	37.46	38.76
15	50.66	51.66
20	62.85	63.72
30	84.46	86.08
45	93.49	97.75
60	93.52	98.06

Factor de similitud : 76.8

En la tabla 25 podemos concluir que los dos lotes son muy similares además de que el factor de similitud entre ellos es mayor que 50, por lo tanto se decidió por tomar el lote A2 para realizar el cálculo con los productos en prueba.

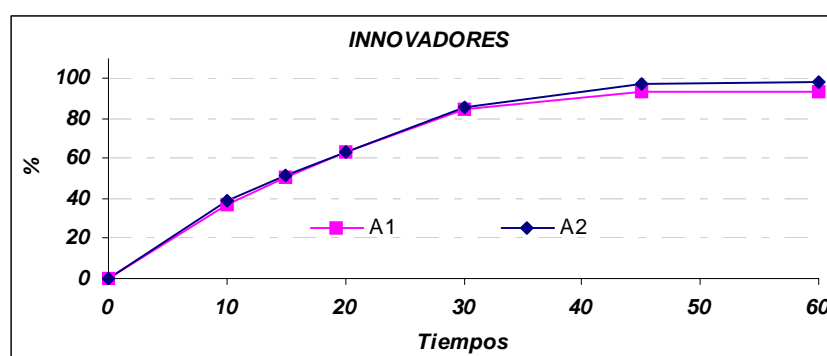


Figura 19. Perfil de disolución de innovadores

6.3.2. Factor de similitud para los lotes en prueba

Para el calculo del factor de similitud para los 8 lotes de prueba, se utilizo la formula matemática antes descrita en la parte experimental.

En el caso de los lotes E1 Y E2 pasan la prueba de similitud ya que su factor es mayor de 50 además se noto que existía un comportamiento muy semejante a l innovador, los lotes B1, B2, C1, C2, D1 y D2 no cumplen con la especificación ya que su factor fue menor a 50 como se indica en la tabla 24.

7. CONCLUSIONES

Con base a los resultados experimentales, se puede concluir lo siguiente:

- La validación del método analítico por espectrofotometría para la cuantificación de clorhidrato de metformina fue el adecuado ya que cumplió con las características de ser lineal, exacto y preciso.
- Los productos comerciales estudiados que contienen como principio activo clorhidrato de Metformina, cumplen con las especificaciones de pruebas de control de calidad y no difieren en más de un 5% con el producto de referencia.
- La prueba de disolución de cada uno de los productos en estudio cumplen con la Q establecida de no menos 70 % a los 30 minutos y los coeficientes de variaciones son menores al 20% para el primer tiempo de muestreo y menores al 10 % para los tiempos subsecuentes, según lo establecido a la NOM-177-SSA-1-1998.
- Los perfiles de disolución del producto E son similares al producto de referencia A por lo cual se recomienda realizar un estudio de bioequivalencia para concluir si los resultados in vitro corresponden a un comportamiento in vivo. En cambio para los productos B,C,D que sus perfiles no fueron similares se les recomienda modificar su formula para poder ser Genéricos Intercambiables.

8 BIBLIOGRAFÍA

1. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deban sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.
2. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, FEUM Octava edición, Secretaria de salud: pp 392-396, 471-482, 2133-2135.
3. Rémington. Farmacia., Editorial Medica Panamericana 2003, pp 765-777.
4. Guía para la industria. Prueba de disolución de formas de dosificación orales sólidas de liberación inmediata (parte 1). Revista de Ciencias Farmacéuticas, 1997.
5. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP (2006).
6. Shah, V.P., et al., 1989, In Vitro Dissolution Profile of Water Insoluble Drug Dosage Forms In the Presence of Surfactants (Perfil de disolución in Vitro de formas de dosificación de fármacos insolubles en agua en presencia de surfactantes), Pharmaceutical Research, 6: 612-618.
7. Femeister A., J Pharm Sci 61: 151, 1972.
8. Braun R. Parrott E: J Pharm Sci 61: 175, 1972.
9. Shah, V. P., et al., 1992, Influence of Higher Rate of Agitación on Release Patterns of Immediate Release Drug Products (Influencia de una mayor velocidad de agitación en los patrones de liberación de los productos medicinales de liberación inmediata), Journal of Pharmaceutical Science, 81: 500-503.
10. Carstensen J et al: J Pharm Sci 69: 290-1980.
11. Abdou HM: Dissolution, Bioavailability and Bioequivalence, Mack Publ Co, Easton PA 1989.
12. Clarke´s Análisis of Drugs and Poisson, London Pharmaceutical Press. Electronic Version, 2004
13. Index Merck, Eleventh edition. pp 934.
14. Diccionario de Especialidades. Ediciones PLM. 2003.

15. G.T. Tucker et al., Br. J clin. Pharmacol, 1981, 12, pp 235-246.
16. C.R Sirton et al. Clin. Pharmacol. Ther., 1978, 24, 683-693.
17. A. Larcan et al. Vet. Hum. Toxicol, 1979, 21, Suppl., 19-22
18. F.Barrueto et al. J. Toxicol. Clin. Toxicol., 2002, 40, 177-180.
19. Center of Drug Evaluation and Research (CDER). Reviewer Guidance. Validation of Chromatographic Methods, November 1994, pp 7, 11, 13, 22.
20. Analytical Chemistry. Dick J.G., International Student Edition, Mc Graw Hill. 1973 (Japan), pp 586-587.
21. Federal Register. May 19, 1997 (volume 62, Number 96). Department of Health and Human Services, Food And Drug Administration. International Conference Harmonisation; Guideline on the Validation Of Analytical Procedures: Methodology; Availability; Notice; pp 27463.
22. Guideline for Industry. Text on Validation of Analytical Procedures. ICH-Q2A. Mar 1995; pp A-2
23. Guía de Validación de Métodos analíticos, Edición 2002, Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos.