



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EVALUACIÓN DEL PERFIL DE
DISOLUCIÓN DE FORMAS FARMACÉUTICAS
SÓLIDAS CONTENIENDO
CAPTOPRIL DEL MERCADO NACIONAL

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGA
P R E S E N T A
LLUVIA AMARANTA DE GANTE DE JESÚS



MÉXICO, D.F.

AÑO 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme regalado una familia tan maravillosa.

A mis padres, por amarme, apoyarme, cuidarme y preocuparse siempre por mi.

Ma: eres la única mamá que se levanta temprano para darle de desayunar a su hija de 24 años, la única que canta canciones de Zoé, de los RHCP y otras bandas; gracias por escucharme, comprenderme, ayudarme y hacerme reír.

Pa: eres el único papá que espera a sus hijas hasta las 4 am para llevarlas a casa aunque ya quieras dormir; me encanta estar contigo porque siempre encuentras el lado gracioso de cualquier cosa; gracias por escucharme y por esas pláticas en el auto en la mañana y en la noche.

Brisa: eres mi hermana favorita (ja), mi mejor amiga, la persona que mejor me conoce, con quien puedo divagar sobre cualquier tema, y reír mucho. Gracias por tu compañía, por interrumpirme cuando hacíamos tarea juntas, por gritar conmigo en los conciertos, por escucharme cuando te interrumpo, por ilustrarme y por amarme.

Gracias a mis viejos amigos; de algún modo todos participaron para que yo pudiera llegar a este punto de mi vida. Vero, Betzaida, Giovanna, Mayra, Esmeralda, Raúl, Roberto Francisco, Itzel, Carmina y Oscar.

A los amigos que han estado conmigo desde el primer semestre de la licenciatura: Bianca, Román y Néstor, sin su ayuda incondicional no habría terminado, gracias a ellos me di cuenta de que la carrera es un trabajo en equipo. Y a los que conocí en el camino: Violeta, Adriana L., Jessica, Miguel Ángel, Paulina Q., Nadia y Montse.

Gracias a todos mis compañeros de equipo (entre ellos algunos amigos), me parece que toda la experiencia adquirida ya sea en el laboratorio o haciendo los informes es invaluable; además no olvidaré todos los momentos divertidos.

Gracias a mis abuelos, he tenido la fortuna de conocerlos y aprender de ustedes. Los quiero mucho.

Gracias a todas mis tías y tíos, sé que siempre he tenido su apoyo y cariño.

Gracias a todos mis primas y primos; a los más grandes porque no se que hubiera hecho sin ustedes en las vacaciones de mi infancia y a los pequeños por tener la confianza de pedirme ayuda, además de hacerme reír.

Gracias a la Doctora Helgi, porque aunque es una persona con múltiples ocupaciones siempre lograba tener tiempo para resolver mis dudas, gracias por sus consejos y por compartir una pequeña parte de su conocimiento.

Gracias a los profesores Inés Fuentes y Alfredo Garzón por el tiempo invertido en corregir mi trabajo.

Gracias a todas las profesoras y compañeros de los laboratorios 112 y 113 del edificio E de la Facultad de Química.

Gracias a la ENP No. 6, a la Facultad de Química y a la Universidad Nacional Autónoma de México.

Jurado asignado:

Presidente	Prof. Alfredo Garzón Serra
Vocal	Prof. Inés Fuentes Noriega
Secretario	Prof. Helgi Helen Jung Cook
1er. Suplente	Prof. Luis Jesús García Aguirre
2°. Suplente	Prof. María de Lourdes Mayet Cruz

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Laboratorios 112 y 113 Edificio E. Facultad de Química. Ciudad Universitaria.

Asesor del tema Dra. Helgi Helen Jung Cook _____

Supervisor técnico M. en C. María de Lourdes Mayet Cruz _____

Sustentante Lluvia Amaranta De Gante De Jesús _____

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Abreviaturas.....	10
1.0 Introducción y objetivos.....	11
2.0 Generalidades.....	14
2.1 Disolución.....	15
2.1.1 Condiciones <i>sink</i>	16
2.1.2 Disolución de una forma farmacéutica sólida de administración oral.....	16
2.1.3 Estudios de disolución.....	17
2.1.4 Aplicaciones del perfil de disolución.....	18
2.1.5 Modelos cinéticos de disolución aparente.....	18
2.1.6 Aparatos de disolución.....	20
2.1.6.1 Verificación y calibración del equipo.....	22
2.1.7 Medio de disolución.....	22
2.1.8 Tratamiento de datos.....	23
2.2 Absorción.....	25
2.2.1 Membrana celular.....	25
2.2.1.1 Transporte de fármacos en el tracto gastrointestinal.....	25
2.2.2 Teoría de pH partición / Hipótesis de reparto por pH.....	26
2.2.3 Aspectos relevantes del tracto gastrointestinal.....	26
2.2.3.1 Principios básicos de absorción gastrointestinal.....	27
2.2.3.2 Vaciamiento del estómago.....	28
2.2.3.3 Variación del pH a lo largo del tracto gastrointestinal	29
2.2.3.4 Función secretora del tracto gastrointestinal.....	29
2.3 Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (BCS).....	31
2.3.1 Bioexenciones.....	32
2.4 Monografía del captopril.....	35
2.4.1 Propiedades fisicoquímicas.....	36
2.4.2 Información médica.....	36
2.4.2.1 Farmacocinética y farmacodinamia.....	36
2.4.2.2 Indicaciones terapéuticas.....	37
2.4.2.3 Contraindicaciones e interacciones medicamentosas.....	37
2.4.2.4 Reacciones secundarias y adversas.....	38
2.4.2.5 Toxicidad.....	38
2.5 Presentaciones comerciales.....	38
3.0 Metodología.....	40
3.1 Equipo y material.....	41
3.2 Reactivos.....	41
3.3 Productos comerciales.....	43
3.4 Pruebas de control de calidad.....	44
3.4.1 Valoración.....	44
3.4.2 Uniformidad de dosis por variación de masa.....	45
3.5 Estudio de perfil de disolución de los productos bajo estudio	46

3.5.1	Preparación de los medios de disolución.....	46
3.5.2	Preparación de las soluciones estándar.....	47
3.5.3	Validación del método analítico para la cuantificación del fármaco en los diferentes medios de disolución.....	47
3.5.3.1	Validación del sistema.....	47
3.5.3.1.1	Linealidad del sistema.....	47
3.5.3.1.2	Precisión del sistema.....	48
3.5.3.2	Influencia del filtro.....	48
3.5.3.3	Validación del método.....	49
3.5.3.3.1	Linealidad del método.....	49
3.5.3.3.2	Precisión del método.....	50
3.5.3.3.3	Exactitud del método.....	51
3.5.3.3.4	Estabilidad de la muestra.....	51
3.5.3.3.5	Selectividad del método.....	51
3.5.4	Disolución.....	51
4.0	Resultados y discusión.....	53
4.1	Control de calidad.....	54
4.1.2	Valoración.....	54
4.1.3	Uniformidad de dosis por variación de masa.....	54
4.2	Estudio de perfil de disolución de los productos bajo estudio	55
4.2.1	Validación del método analítico para la cuantificación del fármaco en los diferentes medios de disolución.....	55
4.2.1.1	Validación del sistema.....	57
4.2.1.2	Influencia del filtro.....	61
4.2.1.3	Validación del método.....	62
4.2.1.3.1	Selectividad. Producto Innovador.....	62
4.2.1.3.2	Validación del método. Producto 1.....	63
4.2.1.3.2.1	Validación del método en solución 0.1N de ácido clorhídrico pH 1.2.....	63
4.2.1.3.2.2	Validación del método en solución amortiguadora (SA) de acetatos pH 4.5.....	66
4.2.1.3.2.3	Validación del método en solución amortiguadora (SA) de fosfatos 0.05 M pH 6.8.....	69
4.2.1.3.3	Selectividad. Producto 2.....	73
4.2.1.3.4	Selectividad. Producto 3.....	75
4.3	Disolución.....	77
5.0	Conclusiones.....	84
6.0	Notas.....	86
7.0	Bibliografía.....	89
8.0	Apéndice.....	92

ÍNDICE DE TABLAS

No. de tabla	Contenido	Pág.
1	Valores de pH en las regiones del tracto gastrointestinal.....	29
2	Preparación de la curva patrón.....	47
3	Longitud de onda para cada medio de disolución.....	48
4	Condiciones experimentales de la disolución.....	51
5	Resultados de valoración.....	54
6	Resultados de uniformidad de dosis.....	55
7	Linealidad del sistema en los tres medios de disolución.....	57
8	Precisión del sistema en los tres medios de disolución.....	60
9	Porcentaje de captopril retenido por los dos filtros empleados.....	61
10	Linealidad y precisión (repetibilidad) del método de cuantificación de captopril en solución 0.1 N de HCl pH 1.2. Producto 1.....	64
11	Exactitud y precisión (reproducibilidad) del producto 1 en solución 0.1 N de ácido clorhídrico pH 1.2.....	65
12	Linealidad y precisión (repetibilidad) del método de cuantificación de captopril en SA de acetatos pH 4.5. Producto 1	67
13	Exactitud y precisión (reproducibilidad) del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5.....	68
14	Linealidad y precisión (repetibilidad) del método en SA de fosfatos 0.05M pH 6.8. Producto 1.....	70
15	Exactitud y precisión (reproducibilidad) del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8.....	70
16	Resultados de disolución.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

No. de figura	Contenido	Pág.
1	Procesos que sufre una tableta para liberar el principio activo.....	16
2	Sistema de clasificación biofarmacéutico.....	31
3	Estructura química del captopril.....	35
4	Espectro de absorción del estándar de captopril en solución 0.1 N de HCl pH 1.2.....	55
5	Espectro de absorción del estándar de captopril en SA de acetatos pH 4.5.....	56
6	Espectro de absorción del estándar de captopril en SA de fosfatos pH 6.8.....	56
7	Curva patrón promedio de captopril en solución 0.1 N de HCl pH 1.2.....	58
8	Curva patrón promedio de captopril en SA de acetatos pH 4.5....	58
9	Curva patrón promedio de captopril en SA de fosfatos pH 6.8.....	59
10	Espectro de absorción del producto innovador en solución 0.1 N de HCl pH 1.2.....	62
11	Espectro de absorción del producto innovador en SA de acetatos pH 4.5.....	62
12	Espectro de absorción del producto innovador en SA de fosfatos 0.05 M pH 6.8.....	63
13	Curva patrón promedio del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2. Día 1.....	64
14	Curva patrón promedio del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2. Día 2.....	65
15	Espectro de absorción del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2.....	66
16	Curva patrón promedio del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5. Día 1.....	67
17	Curva patrón promedio del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5. Día 2.....	68
18	Espectro de absorción del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5.....	69
19	Curva patrón promedio del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8. Día 1.....	70
20	Curva patrón promedio del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8. Día 2.....	71
21	Espectro de absorción del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8.....	72
22	Espectro de absorción del producto 2 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2.....	73
23	Espectro de absorción del producto 2 en SA de acetatos pH 4.5.	74

24	Espectro de absorción del producto 2 en SA de fosfatos 0.05 M pH 6.8.....	74
25	Espectro de absorción del producto 3 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2.....	75
26	Espectro de absorción del producto 3 en SA de fosfatos 0.05 M pH 6.8.....	75
27	Espectro de absorción del producto 3 en SA de fosfatos 0.05 M pH 6.8.....	76
28	Perfiles de disolución del producto innovador en los 3 medios de disolución.....	78
29	Perfiles de disolución del producto 1 en los 3 medios de disolución.....	78
30	Perfiles de disolución del producto 2 en los 3 medios de disolución.....	79
31	Perfiles de disolución del producto 3 en los 3 medios de disolución.....	79
32	Perfiles de disolución de los 4 productos en solución 0.1 N de HCl pH 1.2.....	80
33	Perfiles de disolución de los 4 productos en SA de acetatos pH 4.5.....	80
34	Perfiles de disolución de los 4 productos en SA de fosfatos pH 6.8.....	81

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
BCS	Biopharmaceutic Classification System
mL	Mililitros
BE	Bioequivalencia
FDA	Food and Drug Administration
WHO	World Health Organization
rpm	Revoluciones por minuto
°C	Grados Celsius
μg	Microgramos
mg	Miligramos
Kg	Kilogramos
μL	Microlitros
±	Más menos
g	Gramos
nm	Nanómetros
N	Normal
M	Molar
R ² o r	Coefficiente de regresión
m	Pendiente
b	Intercepto u ordenada al origen
ERDR	Error relativo debido a la regresión
%CV	Porcentaje de coeficiente de variación
X	Promedio
DE	Desviación estándar
DEA	Desviación estándar relativa
min	Minutos
HPLC	High performance liquid chromatography
USP	United States Pharmacopoeia
L	Litro
S y/x	Desviación estándar de la regresión
SA	Solución amortiguadora
t	Tiempo
mm	Milímetros
λ _{max}	Longitud de onda de máxima absorción
A	Unidades de absorbancia
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos



1.0 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (BCS) fue propuesto por el Dr. Gordon Amidon en 1995 y es un marco científico para la clasificación de fármacos basado en su solubilidad acuosa y permeabilidad intestinal. El BCS puede ser empleado como una herramienta para justificar la bioexención de un producto⁽¹⁾. El término bioexención se refiere a que se puede eximir a un producto de un estudio de bioequivalencia y en su lugar se requiere un estudio de perfil de disolución a 3 pHs diferentes. Una de las principales ventajas del procedimiento de bioexención es la disminución del tiempo requerido para llevar a cabo los estudios y la reducción en el costo de llevar algunos productos genéricos al mercado.

La guía *“Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Containing Certain Active Moieties / Active Ingredients Based on a Biopharmaceutics Classification System”* fue publicada por la FDA en el año 2000. Esta guía propone la exención de los estudios de bioequivalencia o biodisponibilidad para las formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata que contienen principios activos que pertenecen a la Clase I (alta solubilidad y alta permeabilidad), considerando suficiente el estudio de perfil de disolución para sustentar la bioequivalencia. Para ello, el perfil de disolución del medicamento de prueba debe ser “similar” al perfil de disolución del medicamento de referencia, empleando el análisis estadístico de factor de similitud (f_2). Además, la disolución del principio activo debe ser igual o mayor al 85% en 30 minutos en los 3 medios de disolución que simulen el intervalo de pH fisiológico del tracto gastrointestinal.

En los últimos años se ha propuesto ampliar la exención de los estudios de bioequivalencia o biodisponibilidad a las formas farmacéuticas de liberación inmediata con principios activos Clase III, es decir, que presenten alta solubilidad y baja permeabilidad.

Aun cuando el BCS ha sido ampliamente difundido, a la fecha existe poca información acerca de las características de disolución empleando diferentes marcas comerciales

en los medios propuestos, por lo que se consideró importante evaluar el comportamiento de disolución de un fármaco perteneciente a la Clase III para a futuro, poder establecer criterios y lineamientos para este tipo de pruebas.

El captopril es un agente antihipertensivo ampliamente usado en México. En la *Relación de Especialidades Farmacéuticas Susceptibles de Incorporarse al Catálogo de Medicamentos Genéricos* emitida en junio de 2008, se le asigna la prueba tipo C (estudio de bioequivalencia) para la presentación farmacéutica, tabletas de 50 mg. Si la evaluación del comportamiento de disolución de tabletas que contienen captopril fuera suficiente para demostrar su intercambiabilidad, dichos productos se encontrarían al alcance del público en un menor tiempo y el costo del estudio disminuiría notablemente.

Con base en lo anteriormente mencionado, se llevó a cabo el presente trabajo, cuyos objetivos fueron los siguientes:

- Realizar las pruebas de control de calidad (valoración y uniformidad de dosis) de los productos conteniendo captopril del mercado nacional.
- Validar el método analítico para la cuantificación de captopril en los diferentes medios de disolución.
- Evaluar el comportamiento de disolución de productos farmacéuticos nacionales que contienen captopril, simulando las condiciones del pH del tracto gastrointestinal.
- Comparar los perfiles de disolución de productos farmacéuticos nacionales que contienen captopril.



2.0 GENERALIDADES

2.1 Disolución ⁽²⁾

La disolución es el proceso mediante el cual, una sustancia sólida se dispersa en un disolvente para dar lugar a una solución. En 1897, Arthur A. Noyes y Willis R. Whitney llevaron a cabo los primeros experimentos sobre disolución y publicaron un artículo titulado *The Rate of Solution of Solid Substances in their own Solutions*. Los autores obtuvieron la siguiente ecuación:

$$dC / dt = k (C_s - C)$$

Donde C es la concentración al tiempo t , C_s es la solubilidad de saturación de la sustancia y k es una constante; la ecuación puede ser expresada como sigue: la velocidad a la cual una sustancia sólida se disuelve es proporcional a la diferencia entre la concentración de esa solución y la concentración de la solución saturada. Noyes y Whitney atribuyen el mecanismo de disolución a una delgada capa de difusión (solución saturada), que se forma alrededor de la superficie sólida y a través de la cual, las moléculas difunden de una zona de alta concentración hacia una zona de baja concentración.

Brunner y Nernst publicaron juntos un trabajo en 1904 basado en el concepto de la capa de difusión y en la segunda ley de Fick. La principal aportación de este equipo fue una ecuación conocida como la ecuación de Nernst-Brunner:

$$dC / dt = DS / Vh (C_s - C)$$

Donde D es el coeficiente de difusión, h es el grosor de la capa de difusión, S es el área superficial del fármaco expuesta al medio de disolución y V es el volumen del medio de disolución. Un incremento en la velocidad de agitación, en la temperatura o una disminución de la viscosidad del medio, lleva a un incremento en el coeficiente de difusión y a la disminución en el grosor de la capa de difusión. Es importante tomar en cuenta la siguiente expresión:

$$D = kT / 6 \pi \mu r , \text{ donde } \mu = \text{viscosidad y } r = \text{radio}$$

2.1.1 Condiciones *sink*

Las condiciones *sink* describen un sistema de disolución que se encuentra suficientemente diluido, así que el proceso de disolución no se verá impedido por la saturación de la solución. Para lograr condiciones *sink*, en general se debe trabajar con un volumen de medio de disolución 5 o 10 veces mayor que el volumen requerido para preparar una solución saturada ($C \ll C_s$).

$$\text{Entonces } (C_s - C) \approx C_s ,$$

sí se sustituye este término en la ecuación de Nernst-Brunner, se tiene que:

$$dC / dt = DS / Vh (C_s) = k S C_s$$

Porque D , V , C_s y h pueden considerarse constantes cuando se trabaja bajo condiciones de temperatura, velocidad de agitación, volumen del medio, etc.

2.1.2 Disolución de una forma farmacéutica sólida de administración oral ⁽³⁾

Para que el fármaco contenido en una tableta o cápsula alcance su sitio de acción, la forma farmacéutica y el mismo principio activo deben sufrir ciertos procesos, estos se pueden resumir como indica la figura 1.

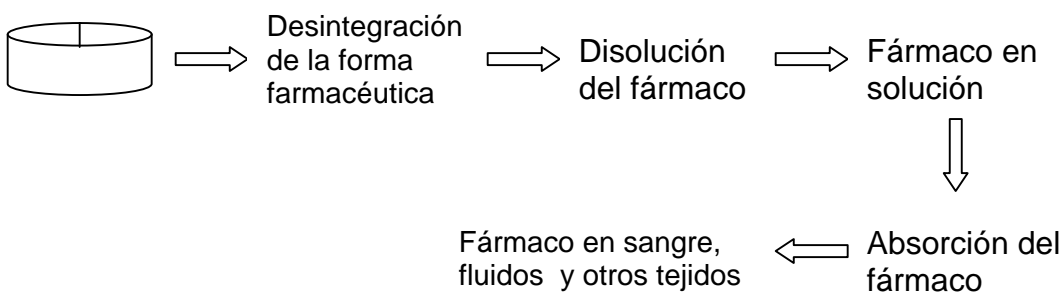


Figura 1. Procesos que sufre un tableta para liberar el principio activo

2.1.3 Estudios de disolución

Los estudios de disolución se dividen en: estudios de disolución intrínseca y estudios de disolución aparente, los cuales se describen a continuación:

DISOLUCIÓN INTRÍNSECA.- En este tipo de estudios se evalúa la disolución del fármaco puro y la superficie expuesta al medio de disolución se mantiene constante. Si se grafican los datos experimentales de cantidad disuelta vs. tiempo se obtiene una línea recta, cuya pendiente corresponde a k_0 . El valor de k_0 es constante bajo ciertas condiciones experimentales y es útil en el proceso de desarrollo de fármacos.

Si se divide k_0 entre el área superficial, se obtiene la constante de disolución intrínseca (k_{dis}), que puede ser un indicador teórico para predecir la disolución del fármaco en estudio:

$0.01 \leq k_{dis} \leq 0.1$ Disolución muy baja

$k_{dis} > 1.0$ Buena disolución

$0.1 \leq k_{dis} \leq 1.0$ Se requiere más información para interpretar los resultados

DISOLUCIÓN APARENTE.- En este tipo de estudios se evalúa la disolución de formas farmacéuticas sólidas. Al llevar a cabo un estudio de disolución, éste a su vez, puede subdividirse en:

- Prueba de disolución. Se refiere a la prueba farmacopéica en la cual solo se toma una muestra puntual (muestra a un solo tiempo).
- Perfil de disolución. En este caso se toman muestras a diferentes tiempos y se determina la cantidad de fármaco en cada una de ellas para generar un gráfico en el que se observe % disuelto vs. tiempo, conocido como perfil de disolución.

2.1.4 Aplicaciones del perfil de disolución ⁽⁴⁾

- a) Como guía en el desarrollo de nuevas formulaciones para verificar que no exista interferencia alguna por parte de los excipientes o el método de producción en la liberación del fármaco.
- b) Para asegurar la continuidad de la calidad y eficacia de un producto después de ciertos cambios (en la formulación, en el proceso de producción, el sitio de producción y el escalamiento del proceso de fabricación).
- c) Prueba de control de calidad si el proceso de producción se encuentra fuera de control.
- d) Como indicador de la biodisponibilidad. Correlación de los resultados *in vitro* con los datos de biodisponibilidad.

2.1.5 Modelos cinéticos de disolución aparente

- ✓ Cinética de orden cero

La velocidad es independiente de la concentración. La superficie sólida es constante, por lo tanto se puede aplicar a formas farmacéuticas que no se desintegren.

$$dm / dt = k_0$$

Al integrar la ecuación se obtiene: $m_t = m_0 + k_0t$

m_t = cantidad de fármaco disuelto al tiempo t

m_0 = cantidad al tiempo t_0

k_0 = constante de disolución de orden cero

✓ Cinética de primer orden

La velocidad de disolución (liberación del fármaco) es proporcional a la cantidad de fármaco que permanece en la forma farmacéutica. La superficie sólida es variable.

$$\ln m_t = \ln m_0 - k t$$

$$m_t = m_0 e^{-k t}$$

En este modelo, m_t se refiere a la cantidad remanente por disolver y m_0 es la cantidad disuelta a tiempo infinito.

✓ Cinética de Weibull

No se trata de una ecuación de cinética, sino más bien de una función estadística. La superficie sólida es variable.

$$X / X_{\text{inf}} = 1 - \exp [- \alpha (t^\beta)]$$

X = porcentaje de fármaco liberado en función del tiempo t

X_{inf} = porcentaje de fármaco liberado a tiempo infinito

α es el factor de escala del proceso

β caracteriza la forma de la curva:

$\beta = 1$ Forma exponencial

$\beta > 1$ Forma sigmoidea o en forma de S con curvatura superior

$\beta < 1$ Forma parabólica con una pendiente exponencial mayor y posteriormente consistente con la exponencial

Algunos otros modelos cinéticos para superficie variable son el de Hixson – Crowell, que se emplea para la disolución de polvos y el de Higuchi, empleado para formas de dosificación de liberación controlada, cuyas ecuaciones son las siguientes:

Hixson-Crowell
$$^3\sqrt{m_t} = ^3\sqrt{m_0} - k * t$$

Higuchi
$$m_t = k * \sqrt{(t - t_0)}$$

2.1.6 Aparatos de disolución ^(4, 5)

Los métodos de disolución más comúnmente empleados son canastillas (aparato 1) y paletas (aparato 2). Las velocidades de agitación más comunes son: canasta de 50 a 100 rpm y paletas de 50 a 75 rpm. Ambos métodos son robustos, simples, bien estandarizados y empleados ampliamente. Estos métodos son suficientemente flexibles para llevar a cabo la prueba de disolución de una amplia variedad de productos. Por esta razón se recomienda emplear los métodos oficiales descritos en la USP para disolución *in vitro* a menos que muestren ser poco satisfactorios. También se pueden considerar los aparatos 3 y 4. Estas metodologías u otras modificaciones / alternativas pueden ser empleadas siempre y cuando se demuestre su robustez para un producto en particular. Las metodologías y aparatos de disolución mencionados en USP, generalmente se pueden usar con muestreo automatizado o manual. Se recomienda calibrar el aparato dos veces al año y cuando se cambie de lugar.

A continuación se describen los aparatos 1 y 2 que aparecen tanto en la USP como en la FEUM. Cabe destacar que en la USP figuran 7 equipos de disolución.

- Aparato 1. Canastillas

Los equipos comerciales de disolución por lo general constan de un baño de agua y de seis unidades de prueba, donde cada una está constituida por un vaso cilíndrico con tapa, un eje transmisor, un regulador de velocidad de rotación y una canastilla. El vaso cilíndrico debe ser de vidrio o de otro material inerte y transparente, de fondo

esférico, de 160 mm a 175 mm de alto y de 98 mm a 106 mm de diámetro interno con capacidad para 1000 mL; la tapa debe estar ajustada para retardar la evaporación y permitir la inserción de un termómetro, así como la toma de la muestra.

El vaso firmemente ajustado, debe estar parcialmente sumergido en el baño de agua, el cual debe tener un ligero movimiento constante y mantener la temperatura del

medio de disolución a $37^{\circ} \text{C} \pm 0.5^{\circ} \text{C}$. El eje transmisor mide de 6.3 mm a 6.5 mm o de 9.4 mm a 10.1 mm de diámetro, debe ser de acero inoxidable tipo 316 y girar suavemente sin bamboleo. Debe estar colocado en el centro del vaso, de tal manera que no quede a más de 2.0 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 $\pm 4\%$.

La canastilla consta de dos partes: la parte superior está unida al eje transmisor del movimiento y es de acero inoxidable tipo 316 con un orificio de 2.0 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, permitiendo que gire en forma concéntrica al eje del vaso durante la rotación; generalmente es de acero inoxidable tipo 316, soldado, formando un cilindro de $36.8 \text{ mm} \pm 3 \text{ mm}$ de alto por $22.2 \text{ mm} \pm 1.0 \text{ mm}$ de diámetro externo, con un borde angosto de hoja de metal alrededor de la tapa, de $5.1 \text{ mm} \pm 0.5 \text{ mm}$ de ancho, de malla número 40. La distancia entre el fondo del vaso y la canastilla, debe mantenerse constante a $25 \text{ mm} \pm 2.0 \text{ mm}$ durante la prueba. En algunos casos es conveniente usar una canastilla con un recubrimiento de oro de $2.5 \mu\text{m}$ de espesor.

- Aparato 2. Paletas

Los equipos comerciales de disolución por lo general constan de un baño de agua y de seis unidades de prueba, donde cada una está constituida por un vaso cilíndrico con tapa, un eje transmisor, un regulador de velocidad de rotación y una hélice. El vaso, el baño de agua, el regulador de velocidad y el eje transmisor siguen las mismas especificaciones que para 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 $4 \text{ mm} \pm 1 \text{ mm}$ de espesor y de $19 \text{ mm} \pm 0.5 \text{ mm}$ de alto, en forma de sección de un círculo de radio de $41.5 \text{ mm} \pm 1.0 \text{ mm}$ y cuerdas

paralelas subtendidas de $42 \text{ mm} \pm 1.0 \text{ mm}$ y de $74.5 \text{ mm} \pm 0.5 \text{ mm}$, quedando la sección más pequeña hacia abajo. La distancia de la base de la paleta al centro del círculo imaginario es de $35.8 \text{ mm} \pm 1.0 \text{ mm}$. La línea central de la cuchilla pasa a través del eje transmisor de tal manera que la sección de 42 mm de la misma quede perpendicular al eje transmisor al final del mango, formando una unidad que puede estar recubierta con un polímero de fluorocarbono o de cualquier otro material inerte. Durante la prueba se debe mantener una distancia de $25 \text{ mm} \pm 0.2 \text{ mm}$ 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 material no reactivo.

2.1.6.1 Verificación y calibración del equipo⁽⁶⁾

La NOM-177 señala que el equipo de disolución empleado debe cumplir con las dimensiones y especificaciones descritas en el método general de análisis MGA 0291 de la FEUM. Se deben realizar las pruebas de confiabilidad del equipo con tabletas calibradoras cuya certificación sea trazable y los resultados de estas pruebas deben estar dentro de los límites de aceptación. Se debe evaluar la magnitud de la vibración del equipo de disolución en condiciones estáticas, y dicha vibración no debe ser mayor que 0.1 mils (aproximadamente 0.025 mm). Antes de comenzar a utilizar el aparato se debe verificar su limpieza, detección de grietas, el nivel del baño y el sistema de muestreo.

2.1.7 Medio de disolución⁽⁴⁾

La prueba de disolución se debe llevar a cabo bajo condiciones fisiológicas. Esto permite la interpretación de los datos obtenidos considerando el desempeño *in vivo* del producto. Las condiciones de la prueba se basan en las características

fisicoquímicas del fármaco y el ambiente al que estará expuesto después de la administración oral.

El volumen del medio de disolución, generalmente es de 500, 900 o 1000 mL. Las condiciones *sink* son deseables pero no obligadas. Se deben emplear medios acuosos en un intervalo de pH de 1.2 a 6.8 (la fuerza iónica de las soluciones debe ser la indicada en la USP o en la farmacopea nacional). Para simular fluido intestinal, se debe emplear un medio de disolución con pH 6.8. Un valor mayor de pH debe ser justificado caso por caso y en general no debe exceder el valor de 8.0. Para simular las condiciones del fluido gástrico se emplea un medio con pH 1.2 sin enzimas. La adición de enzimas en cualquiera de los 2 fluidos debe ser evaluada caso por caso y justificada. Para fármacos insolubles o poco solubles en agua se recomienda adicionar un tensoactivo al medio de disolución, por ejemplo lauril sulfato de sodio. No se recomienda usar medios hidroalcohólicos.

Todas las pruebas de disolución se deben llevar a cabo a $37\pm 0.5^\circ$ C. Ciertos productos y fármacos son sensibles al aire disuelto en el medio por lo que tendrá que deaerarse.

2.1.8 Tratamiento de datos ⁽⁴⁾

✓ Comparación de perfiles de disolución

Los perfiles de disolución se pueden considerar similares en virtud de (1) similitud a lo largo de todo el perfil y (2) similitud en cada tiempo de muestreo de la disolución. La comparación del perfil de disolución puede llevarse a cabo empleando métodos modelo dependiente o modelo independiente.

Un método modelo independiente simple usa el factor de diferencia (f_1) y el factor de similitud (f_2) para comparar perfiles de disolución. El factor de diferencia (f_1) calcula la

diferencia en porcentaje entre dos curvas a cada tiempo y es una medida del error relativo entre dos curvas:

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{t=1}^n R_t} \right\} \cdot 100$$

donde n es el número de tiempos, R_t es el valor de disolución del lote de referencia a tiempo t y T_t es el valor de disolución del lote de prueba a tiempo t .

El factor de similitud (f_2) es la raíz del cuadrado recíproco logarítmico de la suma del error cuadrado y es una medida de la similitud en el porcentaje de disolución entre las dos curvas:

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

Dos curvas se consideran similares si el valor de f_1 es cercano a 0 y si el valor de f_2 es cercano a 100. En general, si $0 \leq f_1 \leq 15$ y $50 \leq f_2 \leq 100$ podemos asegurar que hay similitud o equivalencia entre las dos curvas y, por lo tanto en el desempeño de la prueba para ambos productos.

Este modelo método independiente es más adecuado para la comparación de perfiles de disolución cuando se cuenta con tres, cuatro o más puntos de muestreo. Se sugiere considerar las siguientes recomendaciones:

- Las mediciones deben realizarse bajo las mismas condiciones.
- Los tiempos de muestreo deben ser los mismos para ambos perfiles.
- El porcentaje de coeficiente de variación de los primeros tiempos de muestreo debe ser menor al 20% y en los siguientes no debe ser mayor al 10%.

✓ Tiempo medio de disolución

También se trata de un modelo método independiente. Es el tiempo en el que se disuelve el 62.3 % del fármaco. Para emplear esta herramienta por lo menos debió disolverse 80 % del fármaco contenido en la forma farmacéutica.

2.2 Absorción

2.2.1 Membrana celular ⁽⁷⁾

Esta formada por una bicapa lipídica, por lo tanto, constituye una barrera contra el movimiento de agua (y las sustancias solubles en ella) entre los fluidos intracelular y extracelular. Además contiene un gran número de proteínas que interrumpen la continuidad de la bicapa, la mayoría de estas proteínas funcionan como transportadores; algunas tienen espacios acuosos a lo largo de toda la molécula y permiten el libre movimiento de agua, así como de ciertos iones; estas reciben el nombre de proteínas canal. Otras macromoléculas, llamadas proteínas acarreadoras se unen a moléculas o iones que son transportados. Usualmente, las proteínas canal y las acarreadoras son altamente selectivas en el tipo de moléculas o iones que permiten cruzar a través de la membrana

2.2.1.1 Transporte de fármacos en el tracto gastrointestinal ⁽⁷⁾

El principal tipo de transporte de fármacos en el tracto gastrointestinal es la difusión pasiva y se refiere al movimiento cinético de moléculas o iones que ocurre a través de la membrana. Este tipo de transporte no requiere de energía y es a favor del gradiente de concentración. La difusión pasiva puede llevarse a cabo de dos formas (1) cuando las moléculas son liposolubles y cruzan a través de la membrana (transporte transcelular) y (2) cuando las moléculas atraviesan al líquido intracelular pasando entre los espacios existentes entre las células apicales (transporte paracelular).

2.2.2 Teoría de pH partición / Hipótesis de reparto por pH ⁽⁸⁾

La mayoría de los principios activos son bases o ácidos orgánicos y en solución existen como un equilibrio entre su forma ionizada y la no ionizada. De acuerdo con la teoría de reparto por pH, si el fármaco se absorbe por difusión pasiva, solo la forma no ionizada del fármaco puede atravesar la membrana y cuando se alcanza el equilibrio,

la concentración de las especies no ionizadas es igual en ambos lados de la membrana. La mayoría de la evidencia que apoya esta teoría son estudios de absorción gastrointestinal.

El grado de ionización depende de dos factores, relacionados por la ecuación de Henderson-Hasselbach:

- ✓ La constante de disociación del fármaco o pka (pH en el cual la concentración de la forma ionizada es igual a la concentración de la forma no ionizada).
- ✓ El pH del medio donde se encuentra la molécula y que puede ser diferente a un lado y otro de la membrana.

Para los ácidos: $\text{pH} = \text{pka} + \log (A^- / \text{HA})$

Para las bases: $\text{pH} = \text{pka} + \log (\text{BH} / B^-)$

2.2.3 Aspectos relevantes del tracto gastrointestinal ⁽⁷⁾

Los órganos que forman el tracto gastrointestinal son la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso (también llamado colon), el recto y el ano. Los órganos anteriores junto con el hígado y el páncreas forman el aparato digestivo.

2.2.3.1 Principios básicos de absorción gastrointestinal ⁽⁷⁾

La cantidad total de fluido que debe ser absorbido diariamente por el intestino es igual al fluido ingerido (cerca de 1.5 litros) más las secreciones gastrointestinales (cerca de 7 litros). Esto hace un total de 8 o 9 litros. Todo se absorbe en el intestino delgado, excepto los 1.5 litros que entran al colon cada día.

El estómago es un área donde hay poca absorción, debido a la falta de los típicos vellos de la membrana intestinal y porque las uniones entre las células epiteliales son muy cerradas. Solo algunas pocas sustancias liposolubles como alcohol y aspirina pueden ser absorbidas en pequeñas cantidades.

La superficie del intestino delgado presenta muchos pliegues conocidos como pliegues de Kerckring, los cuales incrementan el área superficial de la mucosa cerca de tres veces. Estos pliegues extendidos circularmente en la mayor parte del intestino están especialmente bien desarrollados en el duodeno y yeyuno, donde a menudo se proyectan hasta 8 mm dentro del lumen.

A su vez, los pliegues de Kerckring presentan millones de vellos (*villi*) que se proyectan cerca de 1 mm a partir de la superficie de la mucosa. Los vellos se encuentran tan cercanos unos de otros en el intestino delgado superior que cubren casi toda esa área, pero su distribución es menor en el intestino delgado distal. La presencia de vellos en la mucosa intestinal incrementa el área total de absorción 10 veces más.

Finalmente, cada vello de cada célula epitelial se caracteriza por la presencia de un borde en cepillo, que consiste en más 1000 microvellos de 1 micrómetro de longitud y 0.1 micrómetros de diámetro que se proyectan en el quimo intestinal. Esto incrementa el área superficial expuesta al contenido intestinal por lo menos otras 20 veces.

Entonces, la combinación de los pliegues de Kerckring, los vellos y microvellos producen un incremento en el área total de absorción de la mucosa aproximadamente de 1000 veces, consiguiendo un área total del 250 m² para el intestino delgado (cerca del área de una cancha de tenis).

2.2.3.2 Vaciamiento gástrico ⁽⁷⁾

El estómago tiene 3 funciones principales: (1) almacenar los alimentos hasta que puedan ser procesados; (2) mezclado de los alimentos con secreciones gástricas hasta formar una mezcla semifluida llamada quimo; y (3) vaciamiento lento del quimo en el intestino delgado a una velocidad tal, que la digestión y absorción se lleven a cabo de una forma adecuada.

La apertura distal del estómago se llama píloro; usualmente se encuentra suficientemente abierto para que agua y otros fluidos logren pasar al intestino delgado. El vaciamiento gástrico se logra aproximadamente 1 o 2 horas después de que se han ingerido alimentos o líquidos; en ayuno este tiempo se puede ver reducido a 15-30 minutos. El retraso en el vaciamiento gástrico puede retrasar la absorción, producir la degradación de compuestos inestables en medio ácido o irritación gástrica (aspirina). A continuación se presentan algunos factores que afectan el vaciamiento gástrico:

- ✓ Aumento en la velocidad de vaciamiento gástrico
Agua, soluciones alcalinas, posición decúbito lateral derecho, estrés, actividad física ligera, ansiedad, hipertiroidismo, etc.

- ✓ Disminución en la velocidad de vaciamiento gástrico
Presencia de alimentos en el estómago, ácidos, soluciones alcalinas concentradas, posición decúbito lateral izquierdo, depresión, ejercicio vigoroso, hipotiroidismo, etc.

2.2.3.3 Variación del pH a lo largo del tracto gastrointestinal ⁽⁷⁾

En la tabla 1 se presentan las diferencias de pH a lo largo del tracto gastrointestinal.

Tabla 1. Valores de pH en las regiones del tracto gastrointestinal

Región	Estómago	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Intestino grueso
pH	1-2	5-6	6-7	7-8	6-7 (proximal) 7-8 (distal)

2.2.3.4 Función secretora del tracto gastrointestinal ⁽⁷⁾

La secreción de saliva es aproximadamente de 800 a 1500 mL diariamente. La saliva tiene dos principales componentes: (1) ptialina (una α - amilasa), que es una enzima capaz de digerir almidones, y (2) moco, cuya función es lubricante y protectora de las superficies.

A lo largo del tracto gastrointestinal se encuentran situadas glándulas secretoras de moco. El moco es una secreción espesa compuesta principalmente por agua, electrolitos y una mezcla de diversas glicoproteínas. Presenta excelentes propiedades lubricantes y protectoras. El moco se adhiere a las partículas de alimentos y de esta forma pueden resbalar para que ocurra el mezclado y posteriormente la digestión, además es altamente resistente a la digestión enzimática.

Las secreciones esofágicas están compuestas principalmente por moco, que provee lubricación para tragar. Además protege la pared esofágica de la digestión por parte de los jugos gástricos ácidos cuando hay reflujo a partir del estómago.

En el estómago, además de la glándulas secretoras de moco, se encuentran presentes otras glándulas que secretan ácido clorhídrico, pepsinógeno, gastrina, factor intrínseco y moco. Cuando el pepsinógeno es secretado no tiene actividad proteolítica sino hasta que entra en contacto con el ácido clorhídrico y se activa dando lugar a la pepsina. El factor intrínseco es esencial para la absorción de la vitamina B₁₂

en el íleon. La pared estomacal no se encuentra expuesta a la secreción proteolítica ácida gracias a la acción protectora del moco, que además es alcalino.

El jugo pancreático es secretado abundantemente en respuesta a la presencia de quimo en la porción superior del intestino delgado. Se compone de *tripsina*, que digiere por completo las proteínas a péptidos; *amilasa pancreática*, que hidroliza almidones, glicógeno y muchos otros carbohidratos (excepto celulosa); *lipasa pancreática*, que es capaz de hidrolizar las grasas neutras en ácidos grasos y monoglicéridos; *colesterol estearasa* que produce la hidrólisis de los ésteres de colesterol y la *fosfolipasa*.

En la parte superior del duodeno hay secreción de grandes cantidades de moco alcalino en respuesta a un estímulo táctil o irritante en la mucosa duodenal y a hormonas gastrointestinales (secretina). La función del moco es proteger la pared duodenal de la digestión por parte del jugo gástrico altamente ácido que es vaciado del estómago. La secreción en el intestino grueso consiste principalmente en moco, que protege la pared intestinal contra la excoiación y proporciona un medio adherente para mantener la materia fecal unida. Finalmente, el moco protege la pared intestinal de la gran actividad bacteriana que existe en las heces.

2.3 Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (BCS) ⁽¹⁾

El BCS es un marco científico para la clasificación de fármacos basado en su solubilidad acuosa y permeabilidad intestinal. La figura 2 muestra las 4 clases en las que se dividen los fármacos:

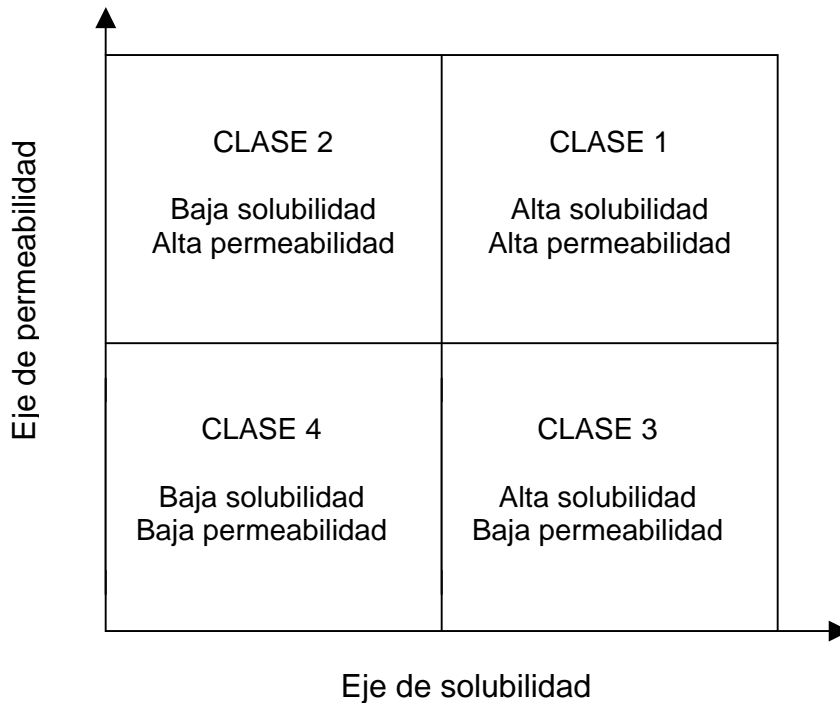


Figura 2. Sistema de clasificación biofarmacéutico

El BCS toma en cuenta tres factores principales que gobiernan la velocidad y cantidad de fármaco absorbido a partir de la forma farmacéutica sólida oral de liberación inmediata: disolución, solubilidad y permeabilidad intestinal.

Para llevar a cabo la clasificación, se aplican los siguientes criterios:

Solubilidad.- Un fármaco es considerado altamente soluble cuando la dosis más alta es soluble en 250 mL o menos de medio acuoso dentro de un intervalo de pH de 1 a 7.5. El volumen estimado de 250 mL deriva de protocolos de un típico estudio de bioequivalencia (BE), que establecen la administración de un producto a voluntarios humanos en ayuno con un vaso de agua.

Permeabilidad.- En ausencia de evidencia que sugiera inestabilidad en el tracto gastrointestinal un fármaco se considera altamente permeable cuando la cantidad absorbida en humanos es igual o mayor al 90 % de la dosis administrada basada en una determinación de balance de masa o comparando con una dosis intravenosa.

En cuanto a la disolución, el término altamente soluble significa que no menos del 85 % de la cantidad de fármaco indicada en el marbete se disuelve dentro de 30 minutos usando el aparato I (canastillas) a 100 rpm o el aparato II (paletas) a 50 rpm en un volumen de 900 mL o menos en cada uno de los siguientes medios: solución 0.1 N de HCl o fluido gástrico simulado sin enzimas, buffer pH 4.5 y buffer pH 6.8 o fluido intestinal sin enzimas.

La diferencia observada *in vivo* de la velocidad y cantidad absorbida de un fármaco a partir de dos productos sólidos orales que sean equivalentes farmacéuticos puede deberse a la disolución *in vivo*. De cualquier forma, cuando la disolución *in vivo* de un producto es rápida en relación al vaciamiento gástrico y el fármaco presenta alta permeabilidad es poco probable que la velocidad y cantidad del fármaco absorbido sean dependientes de la disolución o del tiempo de tránsito gastrointestinal. Bajo esas circunstancias, la demostración de biodisponibilidad o bioequivalencia *in vivo* no sería necesaria para productos que contengan fármacos clase I siempre y cuando, los excipientes contenidos en la forma farmacéutica no afecten de manera significativa la absorción del principio activo.

2.3.1 Bioexenciones ^(1, 9)

Dentro de este marco, cuando se cumple con ciertos criterios, el BCS puede ser usado como una herramienta para justificar las solicitudes de bioexención. Una bioexención significa que para aprobar un producto se puede evitar realizar el estudio *in vivo* ya que la prueba de disolución podría ser un indicador para determinar si dos productos son equivalentes *in vivo*. Una de las principales ventajas del

procedimiento de bioexención es la simplificación de la aprobación del producto y la reducción del tiempo requerido, lo que reduce el costo de los estudios.

De acuerdo con el *American Department of Health and Humans Services* y la FDA para que un producto pueda ser considerado como candidato para un proceso de bioexención debe cumplir con lo siguiente:³

- Contener un fármaco de la Clase 1
- Disolverse rápidamente, esto significa que se debe liberar por lo menos el 85% de su contenido en 30 minutos en tres diferentes medios (pH 1.2, 4.5 y 6.8) con paletas a 50 rpm o canastas a 100 rpm a 37°C en un volumen de 900 mL.
- No deben contener excipientes que ejerzan influencia alguna sobre la absorción del fármaco.
- No deben contener fármacos de estrecho margen terapéutico
- No deben ser productos diseñados para ser absorbidos en la cavidad oral.

La razón de las restricciones mencionadas arriba se debe a que un fármaco clase 1 se comportará como una solución en el tracto gastrointestinal, por lo tanto si está completamente disuelto, la forma farmacéutica y el procedimiento de fabricación no afectaran la absorción. El fármaco no se precipitará después de su disolución debido a su buena solubilidad bajo las condiciones de pH fisiológico. La alta permeabilidad, a su vez, asegura una absorción mayor o igual al 90%. La rápida disolución del producto garantiza que el fármaco estará disponible a lo largo del intestino para ser absorbido (el tiempo de paso a través del intestino delgado aproximadamente es de 4 horas).

En estos últimos años se ha propuesto ampliar la exención de los estudios de bioequivalencia a las formas farmacéuticas de liberación inmediata con principios activos que de acuerdo al BCS sean Clase III, es decir, que presenten alta solubilidad y baja permeabilidad. Esta propuesta ha sido apoyada por la Organización Mundial de

la Salud (WHO por sus siglas en inglés), cuyos criterios adicionales para la aplicación del procedimiento de bioexención son los siguientes:

1) Clasificar los fármacos de acuerdo al BCS tomando en cuenta la revisión de un par de criterios:

- ✓ Un fármaco será considerado de alta solubilidad cuando la dosis mayor se disuelva en un volumen menor o igual a 250 mL de medio acuoso en un intervalo de pH de 1.2 a 6.8 a 37° C. La disminución del valor de pH de 7.5 (FDA) a 6.8 (WHO) refleja la necesidad de disolver el fármaco antes de que alcance el yeyuno medio para asegurar la absorción en el tracto gastrointestinal.
- ✓ Un fármaco será considerado altamente permeable cuando se absorba el 85% o más de la dosis administrada.

2) Evaluación del riesgo: solo si el riesgo (de una decisión de bioexención incorrecta y la evaluación de las consecuencias) es menor que los beneficios potenciales obtenidos de la bioexención ésta puede ser aplicada.

3) Requerimientos de disolución del producto farmacéutico:

- *Disolución muy rápida* (liberación de más del 85% de la cantidad de fármaco indicada en el marbete en 15 minutos) en medios de disolución a pH 1.2, 4.5 y 6.8 usando paletas a 75 rpm o canastas a 100 rpm (aplica a productos que contengan fármacos Clase 3). En este caso se considera que los productos son equivalentes y no se requiere una comparación de los perfiles de disolución
- *Disolución rápida* (liberación más del 85% de la cantidad de fármaco indicada en el marbete en 30 minutos) en medios de disolución a pH 1.2, 4.5 y 6.8 usando paletas a 75 rpm o canastas a 100 rpm (aplica a productos con fármacos Clase 1 y/o Clase 2 que son ácidos débiles y cumplen con el requerimiento dosis: solubilidad de 250 mL a pH 6.8).

-
-
- 4) Consideraciones relacionadas con los excipientes. La autoridad debe estar consciente de que algunos excipientes pueden afectar la solubilidad y/o absorción del fármaco. Si la formulación contiene excipientes diferentes a los que comúnmente se emplean o cantidades inusuales la autoridad no debería aplicar la bioexención.

Para minimizar los riesgos de una decisión incorrecta de bioexención en términos de salud pública y riesgos para pacientes, las indicaciones terapéuticas del fármaco, variaciones farmacocinéticas conocidas, efectos de los alimentos, etc., deberán ser evaluados en base a la experiencia local clínica, tomando en cuenta las indicaciones para las que el fármaco es prescrito, así como las variaciones farmacocinéticas específicas de la población; por ejemplo variabilidad en el citocromo P450, que es el principal catalizador de las reacciones de transformación de fármacos.³

2.4 Monografía del captopril

Estructura química:

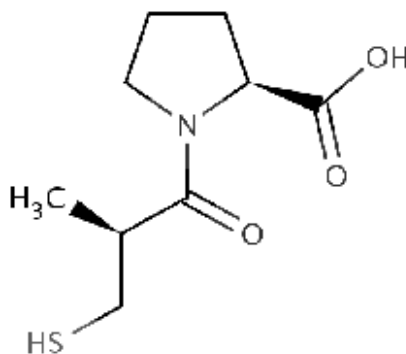


Figura 3. Estructura química del captopril.

Fórmula condensada: C₉H₁₅NO₃S

Nombre químico: 1-[(2S)-3-mercapto-2-metil-1-oxopropil]-L-prolina

2.4.1 Propiedades fisicoquímicas ⁽¹⁰⁾

Descripción: polvo cristalino de color blanco

Peso molecular: 217.29

Punto de fusión: 103° C-104° C (cristales obtenidos a partir de acetato de etilo/hexano)

$pka_1=3.7$ $pka_2=9.8$

Solubilidad: 160 mg/mL de agua a 25° C, soluble en etanol, cloroformo y cloruro de metileno.

Coeficiente de partición: $\log P$ en n-octanol/agua = 0.24 ⁽¹¹⁾

Baja permeabilidad ⁽¹¹⁾

2.4.2 Información médica ⁽¹²⁾

2.4.2.1 Farmacocinética y farmacodinamia

El captopril es un agente antihipertensivo, su mecanismo de acción aún no ha sido completamente dilucidado. Sus efectos benéficos en hipertensión y en la insuficiencia cardiaca parecen ser, sobre todo, el resultado de la supresión del sistema renina-angiotensina-aldosterona, que resulta en la disminución de los niveles séricos de angiotensina II y aldosterona.

- Absorción ^(13, 14)

Se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal; los niveles plasmáticos máximos se alcanzan en aproximadamente una hora. La absorción promedio mínima es de 75%. La presencia de alimentos reduce la absorción en 30% a 40%.

Existen estudios que indican que captopril es muy permeable en intestino delgado pero no en colon y la permeabilidad en intestino delgado depende de pH y de la concentración. Hay un componente pasivo en la absorción de captopril. También se

ha encontrado que en parte hay absorción mediada por un transportador, vía el sistema de transportadores de péptidos.

- Distribución

Aproximadamente del 25% a 30% del fármaco circula unido a proteínas. En estudios animales no se ha demostrado que captopril cruce la barrera hematoencefálica. Las concentraciones de captopril en la leche humana son aproximadamente de 1% de las de la sangre materna.

- Metabolismo y excreción

La vida media de eliminación es de menos de 3 horas. Más del 95% es eliminado por la orina, 40% a 50% como medicamento inalterado y el resto como metabolitos inactivos. La insuficiencia renal puede resultar en la acumulación del fármaco.

2.4.2.2 Indicaciones terapéuticas

El captopril se emplea en el tratamiento de la hipertensión arterial, está indicado en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva, después del infarto al miocardio y en la nefropatía diabética.

2.4.2.3 Contraindicaciones e interacciones medicamentosas

Está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad al captopril o a cualquier otro inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina. No debe administrarse simultáneamente con fármacos que depriman la respuesta inmune. Debido a que el captopril disminuye la producción de aldosterona, puede haber elevación del potasio sérico. Los diuréticos ahorradores de potasio así como los suplementos de potasio se deben administrar sólo cuando haya hipocaliemia demostrada, haciéndolo con precaución, ya que pueden producir un aumento significativo del potasio sérico. Los

pacientes en tratamiento ocasionalmente pueden experimentar una disminución brusca de la presión sanguínea, generalmente dentro de la primera hora después de recibir la dosis inicial de captopril.

2.4.2.4 Reacciones secundarias y adversas

Tos seca, erupción cutánea, prurito, taquicardia, pérdida del sabor, cansancio y trombocitopenia.

2.4.2.5 Toxicidad

La toxicidad relacionada con el fármaco incluye efectos sobre la hematopoyesis, toxicidad renal, erosión o ulceración del estómago y alteraciones en los vasos sanguíneos de la retina. Estudios realizados durante dos años con dosis de 50 a 1,350 mg/kg/día en ratones y ratas no mostraron ninguna evidencia de potencial carcinogénico. Los estudios en ratas no revelaron alteraciones en la fertilidad.

2.5 Presentaciones comerciales ⁽¹²⁾

El captopril se comercializa en el mercado en la forma farmacéutica de tabletas ⁽¹²⁾, como se muestra en la siguiente lista:

- VARAXIL, 25 mg, Merck, S.A de C.V.
- BRUCAP, 25 mg, Importadora y Manufacturera Bruluart S.A.
- ECATEN, 25 mg, Teva Pharmaceuticals México
- KENOLAN, 25 mg, Laboratorios Kendrick S.A.
- CAPOTENA, 25 o 50 mg, Bristol-Myers Squibb de México, S. de R.L. de C.V.
- CAPTRAL, 25 o 50 mg, Silanes, S.A de C.V., Laboratorios
- ECAPRIL, 25 o 50 mg, Sandoz, S.A de C.V.
- ENLACE, 25 o 50 mg, Wermar Pharmaceuticals, S.A de C.V.

-
- HIPERTEX, 25 o 50 mg, Rayere, S.A., Farmacéuticos
 - IPYROL, 25 o 50 mg, Victory Enterprises, S.A. De C.V.
 - MIDRAT, 25 o 50 mg, Sandoz, S.A de C.V.
 - ROMIR, 25 o 50 mg, Diba, S.A., Laboratorios
 - TENSIL, 25 o 50 mg, Best, S.A., Laboratorios

3.0 METODOLOGÍA

3.1 Equipo y material

Balanza analítica Sartorius. Tipo A210P

Disolutor Vankel. Modelo VK7000-8. No. de serie 1-3471-1094

Espectrofotómetro Shimadzu

Espectrofotómetro Beckman DU-68

HPLC Shimadzu Auto Injector. SIL-10A columna

Potenciómetro Thermo Orion. Modelo 410

Sonicador Transsonic 700/H. Marca Elma

Centrífuga Eppendorf. Modelo 5416

Filtros de teflón Varian modelo 17-4010

Filtro de membrana Whatman 4

Jeringas de 10 mL

Micropipeta Eppendorf de 100-1000 μ l

Micropipeta Eppendorf de 500-5000 μ l

3.2 Reactivos

Ácido clorhídrico concentrado

Marca J. T. Baker. Lote E37C30

Acetato de sodio trihidratado

Marca J. T. Baker. Lote C17C016

Ácido acético glacial

Marca J. T. Baker. Lote Y45C60

Fosfato monobásico de potasio

Marca J. T. Baker. Lote C37C03

Hidróxido de sodio (perlas)

Marca J. T. Baker Lote A38C62

Solución amortiguadora de referencia Hycel

pH $4,01 \pm 0,01$ a 25°C. Lote 167599. Caducidad: Marzo 2009

Solución amortiguadora de referencia Hycel

pH $7,00 \pm 0,01$ a 25°C. Lote 170191. Caducidad: Abril 2009

Solución amortiguadora de referencia Hycel

pH $10,00 \pm 0,02$ a 25°C. Lote 161398. Caducidad: Noviembre 2008

Ácido fosfórico

Marca J. T. Baker. Lote 38362

Metanol grado HPLC

Marca J. T. Baker. Lote A47C02

Estándar de captopril donado por Laboratorios Silanes S. A de C. V

Control de Calidad. Pureza: 99.28% Lote: 04110001113

Cantidad: 2.0008 g

3.3 Productos comerciales

Se estudiaron tabletas de liberación inmediata conteniendo 50 mg de captopril, las cuales fueron adquiridas directamente de la farmacia.

Producto Innovador. *Capotena*

Bristol-Myers Squibb de México, S. de R. L. de C. V.

Lote 7E10004 1

Caducidad: Noviembre 2009

Producto 1. *Enlace*

Wermar Pharmaceuticals S. A de C. V

Lote 7061

Caducidad: Febrero 2009

Producto genérico de marca.

Producto 2. *Tensil*

Laboratorios Best

Lote 070363

Caducidad: Marzo 2009

Producto genérico de marca

Producto 3. *Bioxil*

Laboratorio Biomep

Lote 0607293

Producto genérico de marca

3.4 Pruebas de control de calidad: valoración y uniformidad de dosis ⁽⁵⁾

3.4.1 Valoración

Preparación de la fase móvil metanol:agua. Colocar 400 mL de agua desionizada en un matraz volumétrico de 500 mL, adicionar 2.5 mL de ácido fosfórico, llevar a volumen con agua desionizada y mezclar. Colocar 550 mL de metanol grado HPLC en un matraz volumétrico de 1000 mL, llevar a volumen con el agua acidificada previamente y mezclar. Someter a la acción de un baño de ultrasonido durante 15 minutos.

Preparación de la referencia. Pesar 20 mg de la SRef de captopril, transferir a un matraz volumétrico de 10 mL, disolver y llevar a volumen con la fase móvil, mezclar. Esta solución contiene 2 mg/mL de captopril. Pasar una alícuota de 5 mL de la solución de captopril a un matraz volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con fase móvil y mezclar. Esta solución contiene 1 mg/mL de captopril. Tomar 1 mL de esta solución y colocarlo en un matraz volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con fase móvil y mezclar. La concentración de esta solución es de 100 µg/mL. Someter a la acción de un baño de ultrasonido durante 15 minutos.

Preparación de la muestra. Pesar no menos de 20 tabletas, calcular su peso promedio y triturar hasta polvo fino, pesar una cantidad del polvo equivalente a 100 mg de captopril, pasar a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar 80 mL de fase móvil, someter a la acción de un baño de ultrasonido durante 15 min, llevar a volumen con el mismo disolvente, mezclar y centrifugar. Tomar 1 mL de esta solución y colocarlo en un matraz volumétrico de 10 mL, llevar a volumen con fase móvil y mezclar. La concentración de esta solución es de 100 µg/mL. Someter a la acción de un baño de ultrasonido durante 15 minutos.

Condiciones del equipo. Detector de luz UV a una longitud de onda de 220 nm; columna de 25 cm x 4,6 mm empacada con L1, con una carga de 15 por ciento de hidrocarburos; flujo de 1 mL/min.

Se inyectaron al cromatógrafo 20 µL de la preparación de referencia, se ajustaron los parámetros de operación y se registraron los picos respuesta. Una vez ajustados los parámetros de operación, se inyectaron al cromatógrafo, por separado, volúmenes iguales (20 µL) de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra, se obtuvieron sus correspondientes cromatogramas. La cantidad de captopril en la porción de muestra tomada se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$CD(Am/Aref)$

Donde:

C= cantidad de captopril en la preparación de referencia.

D= factor de dilución de la muestra

Am= área obtenida en el cromatograma con la preparación de la muestra

Aref= área obtenida en el cromatograma con la preparación de referencia

3.4.2 Uniformidad de dosis por variación de masa

De acuerdo a la FEUM, esta prueba debía realizarse por uniformidad de contenido pero se llevó a cabo por el método de variación de masa ya que no se contaba con suficiente producto.

Procedimiento. Se determinó la masa de 10 unidades de dosificación de manera individual y se calculó el peso promedio. La cantidad de captopril en cada tableta se calculó en base al resultado obtenido en la valoración, suponiendo que el ingrediente activo estaba distribuido homogéneamente. El contenido de principio activo en cada tableta se calculó empleando la siguiente fórmula:

$\% \text{ Captopril / tableta} = (\text{g captopril} * \text{Peso tableta} * 100\%) / (\text{Peso promedio} * 0.05\text{g})$

Donde:

g captopril = resultado de la valoración de captopril en g

peso tableta = peso individual de cada tableta en g

peso promedio = peso promedio de las 10 tabletas en g

3.5 Estudio de perfil de disolución de los productos bajo estudio.

3.5.1 Preparación de los medios de disolución

- ✓ Solución 0.1 N de HCl pH 1.2

Disolver 8.5 mL de ácido clorhídrico concentrado en 300 mL de agua destilada contenidos en un matraz volumétrico de 1 L. Mezclar y llevar a volumen con agua destilada.

- ✓ Solución amortiguadora de acetatos pH 4.5

Pesar 2.99 g de acetato de sodio trihidratado y disolver en 300 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1 L. Agregar 1.66 mL de ácido acético glacial, mezclar y llevar a volumen con agua destilada.

- ✓ Solución amortiguadora de fosfatos 0.05 M pH 6.8

Pesar 6.8045 g de fosfato monobásico de potasio y disolver en 300 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1 L. Agregar 50 mL de solución de NaOH 0.5 M, mezclar y llevar a volumen con agua destilada.

Solución 0.5 M de hidróxido de sodio

Pesar 20 g de hidróxido de sodio y disolver en 300 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1 L. Mezclar y llevar a volumen con agua destilada.

El gas disuelto en los medios de disolución fue eliminado desgasificando al vacío.

3.5.2 Preparación de las soluciones estándar

Para obtener la solución stock con una concentración de 100 µg/mL se pesaron 10 mg de captopril sustancia de referencia, se disolvieron en 50 mL del medio de disolución correspondiente y se llevó a un volumen de 100 mL con el mismo medio. La siguiente tabla muestra la preparación de las curvas patrón, a partir de la solución stock:

Tabla 2. Preparación de la curva patrón.

Solución	Alícuota del stock (mL)	Volumen (mL)	Concentración (µg/mL)
1	0.7	25	2.8
2	0.5	10	5.0
3	1.0	10	10.0
4	1.5	10	15.0
5	2.0	10	20.0
6	2.5	10	25.0
7	3.0	10	30.0

3.5.3 Validación del método analítico para la cuantificación del fármaco en los diferentes medios de disolución

3.5.3.1 Validación del sistema ⁽⁶⁾

3.5.3.1.1 Linealidad del sistema

Se prepararon 3 curvas patrón del estándar de captopril en cada uno de los medios de disolución. Se determinó la absorbancia de cada solución a las siguientes longitudes de onda:

Tabla 3. Longitud de onda para cada medio de disolución.

Medio de disolución	Longitud de onda (nm)
Solución 0.1 N de HCl pH 1.2	212
Solución amortiguadora de acetatos pH 4.5	215
Solución amortiguadora de fosfatos 0.05 M pH 6.8	212

Se calculó coeficiente de regresión (r), pendiente (m) e intercepto (b) para cada una de las curvas, así como el error relativo debido a la regresión (ERDR). La linealidad del sistema se debe demostrar con un coeficiente de correlación mayor o igual a 0.99 y un ERDR no mayor al 2%.

Las longitudes de onda de la tabla 2 son las de máxima absorción para captopril en cada medio de disolución, obtenidas a través de los espectros de absorción de soluciones del estándar con concentración de 5 $\mu\text{g/mL}$ en el intervalo de 190.0 a 300.0 nm.

3.5.3.1.2 Precisión del sistema

Para ello se evaluó el factor de respuesta, dividiendo la respuesta obtenida para cada uno de los puntos de la curva entre su concentración correspondiente. A partir de estos datos se calculó el coeficiente de variación (%CV) del factor de respuesta para todos los puntos del sistema. La precisión del sistema se demuestra con un coeficiente de variación no mayor al 2%.⁽⁶⁾

3.5.3.2 Influencia del filtro

Se pesaron 10 mg de estándar de captopril, se colocaron en un matraz volumétrico de 100 mL, se disolvieron en el medio de disolución y se llevó a volumen para obtener una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$. A partir de esa solución stock, se prepararon 2 soluciones:

-
-
- Solución de concentración baja (5 µg/mL)

Se tomaron 500 µL de la solución stock y se llevó a un volumen de 10 mL.

- Solución de concentración alta (30 µg/mL)

Se tomaron 3000 µL de la solución stock y se llevó a un volumen de 10 mL.

Se filtraron 6 alícuotas de 1 mL de las soluciones conteniendo la concentración baja y alta, empleando un filtro de teflón y se determinó su absorbancia a la longitud de onda indicada en la tabla 3 de acuerdo al medio de disolución con el que se estuviera trabajando. Se calculó el valor promedio de las 6 alícuotas filtradas. Así mismo se determinó la absorbancia de las soluciones sin filtrar.

El mismo procedimiento se llevó a cabo empleando un filtro de membrana para ambas concentraciones.

Para calcular el porcentaje de captopril retenido en cada caso, se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ captopril retenido} = 100\% - [(Abs_{PROM} * 100) / Abs_{SF}]$$

Donde:

Abs_{PROM} = Absorbancia promedio de las alícuotas filtradas

Abs_{SF} = Absorbancia de la solución no filtrada

3.5.3.3 Validación del método analítico para cuantificar captopril

3.5.3.3.1 Linealidad del método

De cada uno de los productos comerciales bajo estudio se determinó individualmente la masa de 10 tabletas y se obtuvo el peso promedio. Se trituraron empleando un mortero con pistilo hasta obtener polvo fino. Se pesó la cantidad de polvo equivalente

a 10 mg de captopril y se llevó a un volumen de 100 mL; esta es la solución stock de 100 µg/mL.

Se filtró empleando el filtro de membrana para retener los excipientes no solubles. Para determinar la linealidad, se prepararon 3 curvas patrón de cada uno de los productos en los 3 medios de disolución, de acuerdo a lo descrito en la tabla 2 y se determinó la absorbancia empleando la longitud de onda especificada en la tabla 3.

Se calculó el coeficiente de regresión (r), la pendiente (m), el intercepto (b) y el error relativo debido a la regresión (ERDR). La linealidad del método se demuestra con un coeficiente de regresión mayor o igual a 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 3%.⁽⁶⁾

3.5.3.3.2 Precisión del método

✓ Repetibilidad

Se calculó el promedio (X), la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (%CV) para cada una de las concentraciones de los datos obtenidos en las 3 curvas de linealidad. El coeficiente de variación de los datos de linealidad no debe ser mayor a 3%.⁽⁶⁾

✓ Reproducibilidad

Se prepararon 3 curvas más en un día diferente y se determinó la concentración experimental. Para cada una de las concentraciones de la curva se calculó el promedio (X), la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación en porcentaje (%CV). El coeficiente de variación global no debe ser mayor a 3%.

3.5.3.3.3 Exactitud del método

A partir de los datos de reproducibilidad se calculó la desviación estándar relativa (DEA). El valor de DEA debe ser menor al 3% para demostrar la exactitud del método.

3.5.3.3.4 Estabilidad de la muestra

No se realizó, ya que existe información acerca de la estabilidad de captopril en las mismas condiciones experimentales. ⁽¹⁵⁾ Las muestras de captopril son estables durante 2 horas a 37° C.

3.5.3.3.5 Selectividad

Con el fin de verificar que los excipientes no interfirieran en el análisis, se realizaron barridos en el intervalo de 190.0 a 300.0 nm de soluciones de concentración de 5 µg/mL y se compararon los espectros de absorción.

3.5.4 Disolución

Se llevó a cabo la disolución de 12 unidades de dosificación de cada uno de los productos estudiados en los tres diferentes medios de disolución (solución 0.1 N de HCl pH 1.2, solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 y solución amortiguadora de fosfatos 0.05 M pH 6.8), a excepción del producto innovador, del que solo se evaluaron 6 unidades. Las condiciones experimentales se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Condiciones experimentales de la disolución

Aparato de disolución	II (paletas)
Temperatura del medio de disolución	37° C ± 0.5
Volumen del medio de disolución	900 mL
Velocidad de agitación	50 rpm ±4%
Tiempos de muestreo	5, 10, 15, 20, 25 y 30 min
Volumen de muestra tomada	6 mL

El baño del disolutor se encendió una hora antes de comenzar la disolución. Se colocaron las paletas y se verificó que la velocidad de agitación de cada una fuera de 50 rpm. Se colocaron los vasos para ajustar la altura de las paletas a $25 \text{ mm} \pm 0.2 \text{ mm}$; posteriormente se adicionaron los 900 mL de medio de disolución a cada uno de los vasos y una vez que la temperatura alcanzó los $37^\circ \text{ C} \pm 0.5$ se comenzó con la disolución. Las muestras se tomaron a los 5, 10, 15, 20, 25 y 30 min sin reposición del medio de disolución, lo cual fue considerado en los cálculos.

La curva patrón para cada disolución se preparó de la misma forma que las curvas empleadas para la validación del sistema (tabla 2).

4.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Control de calidad

4.1.2 Valoración

La tabla 5 muestra el peso promedio de la muestra de tabletas (10 unidades), los resultados de la valoración expresados en porcentaje de captopril y el porcentaje de diferencia en contenido con respecto a la valoración del producto innovador.

Tabla 5. Resultados de valoración

Producto	Peso promedio (g)	Contenido de captopril (%)	Diferencia en contenido con respecto a la valoración del producto innovador
Innovador	0.2014	104.3	
1	0.1540	109.4	5%
2	0.1805	106.5	2%
3	0.3069	103.2	1%

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. ⁽⁶⁾

De acuerdo a los datos de la tabla 5, se puede observar que todos los productos bajo estudio cumplen con la especificación farmacopéica de valoración (90.0 – 110.0 %).

Dado que el porcentaje de valoración de los productos de prueba no difiere en más del 5% con respecto al medicamento de referencia, cumplen con lo establecido en la NOM-177-SSA1-1998.

4.1.3 Uniformidad de dosis por variación de masa

La tabla 6 muestra el porcentaje promedio de captopril en cada uno de los productos, así como la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación expresado en porcentaje (%CV). En ella se puede observar que el porcentaje promedio de captopril en el producto innovador y en los 3 productos de prueba cumple con la especificación

de 85.0 – 115.0 % de principio activo. Todas las unidades de dosificación bajo estudio cumplieron individualmente el criterio establecido en la FEUM.

Tabla 6. Resultados de uniformidad de dosis

	Producto Innovador	Producto 1	Producto 2	Producto 3
% Promedio de captopril	104.3	109.5	106.5	103.2
DE	1.9	2.2	0.8	2.0
%CV	1.8	2.0	0.7	2.0

4.2 Estudio de perfil de disolución de los productos bajo estudio

4.2.1 Validación del método analítico para la cuantificación del fármaco en los diferentes medios de disolución

Determinación de la longitud de máxima absorción en cada medio de disolución.

En las figuras 4, 5 y 6 se presentan los espectros de absorción del estándar de captopril.

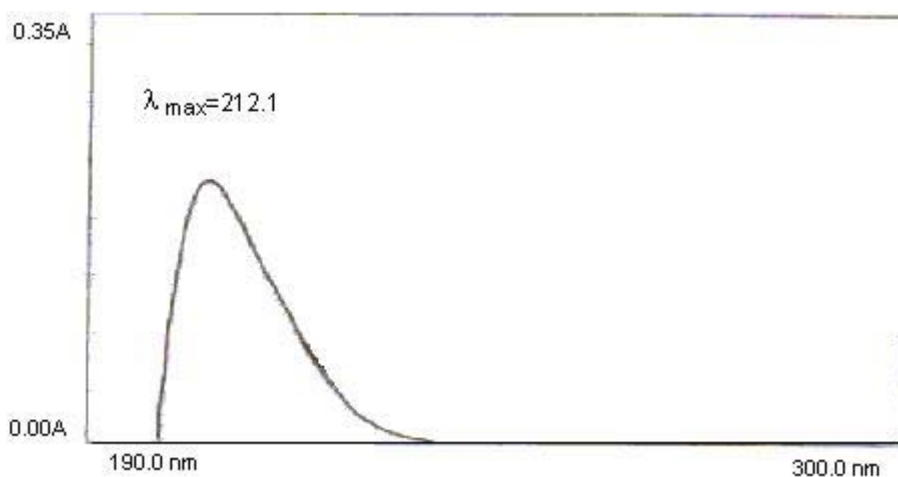


Figura 4. Espectro de absorción del estándar de captopril en solución 0.1 N de HCl pH 1.2

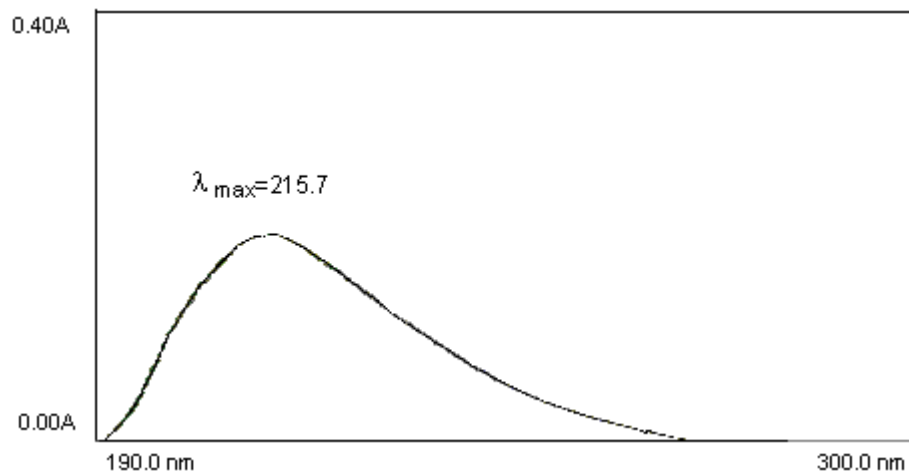


Figura 5. Espectro de absorción del estándar de captopril en SA de acetatos pH 4.5

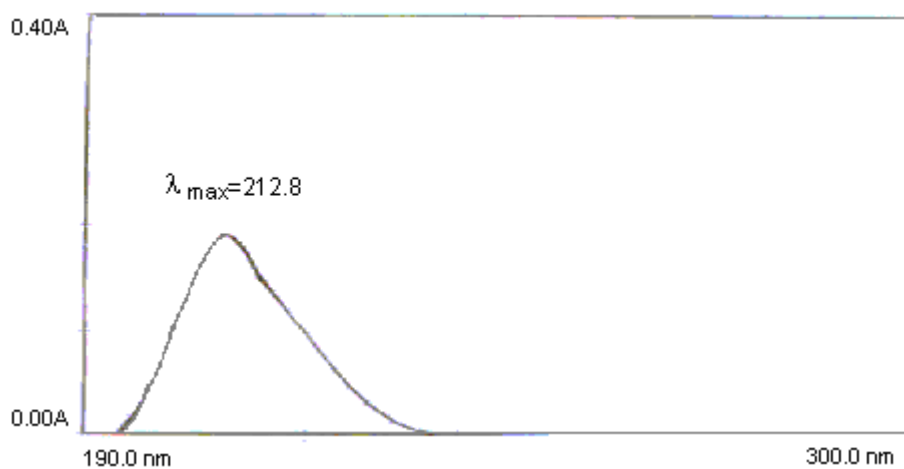


Figura 6. Espectro de absorción del estándar de captopril en SA de fosfatos pH 6.8

De acuerdo a las figuras 4, 5 y 6, las longitudes de onda elegidas para el estudio fueron 212 nm para la solución 0.1N de HCl pH 1.2 y SA de fosfatos pH 6.8 y 215 nm para la SA de acetatos pH 4.5.

4.2.1.1 Validación del sistema

✓ Linealidad del sistema

La tabla 7 muestra la absorbancia promedio en cada medio de disolución, así como el intercepto (b), la pendiente (m), el coeficiente de regresión (r) y el error relativo debido a la regresión (ERDR). Se puede observar que el coeficiente de regresión promedio de las curvas de calibración de captopril preparadas en los tres medios de disolución fue mayor a 0.99 y el error relativo debido a la regresión (ERDR) fue menor al 2% con lo cual queda demostrada la linealidad del sistema en los tres medios de disolución.

Tabla 7. Linealidad del sistema en los tres medios de disolución

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia curva patrón promedio		
	Solución 0.1 N de HCl pH 1.2	SA de acetatos pH 4.5	SA de fosfatos pH 6.8
2.8	0.072	0.062	0.107
5.0	0.133	0.122	0.178
10.0	0.284	0.240	0.347
15.0	0.423	0.357	0.514
20.0	0.552	0.477	0.665
25.0	0.686	0.586	0.816
30.0	0.821	0.698	0.966
b	1.1×10^{-3}	4.0×10^{-3}	2.6×10^{-2}
m	2.8×10^{-2}	2.3×10^{-2}	3.2×10^{-2}
r	0.9994	0.9995	0.9993
S y/x	7.3×10^{-3}	5.5×10^{-3}	9.1×10^{-3}
ERDR	1.73%	1.52%	1.77%

Las figuras 7, 8 y 9 corresponden a la curva patrón promedio en cada medio de disolución.

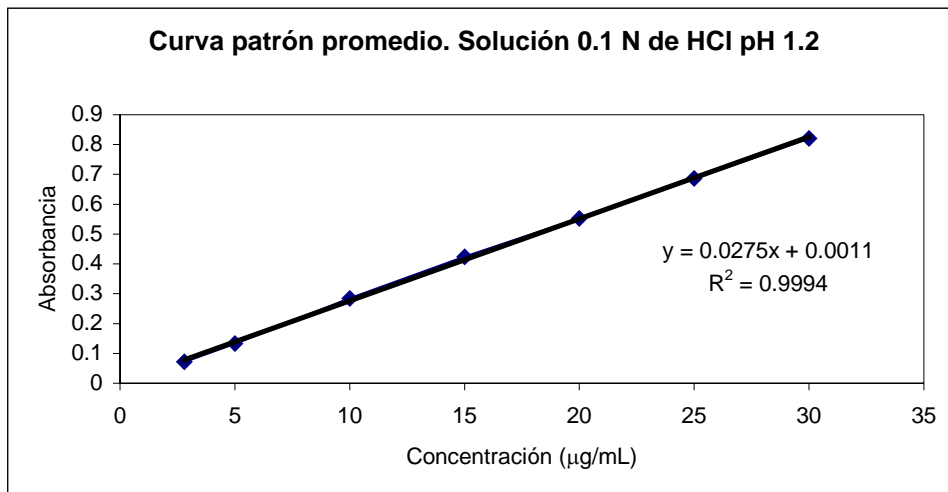


Figura 7. Curva patrón promedio de captopril en solución 0.1 N de HCl pH 1.2

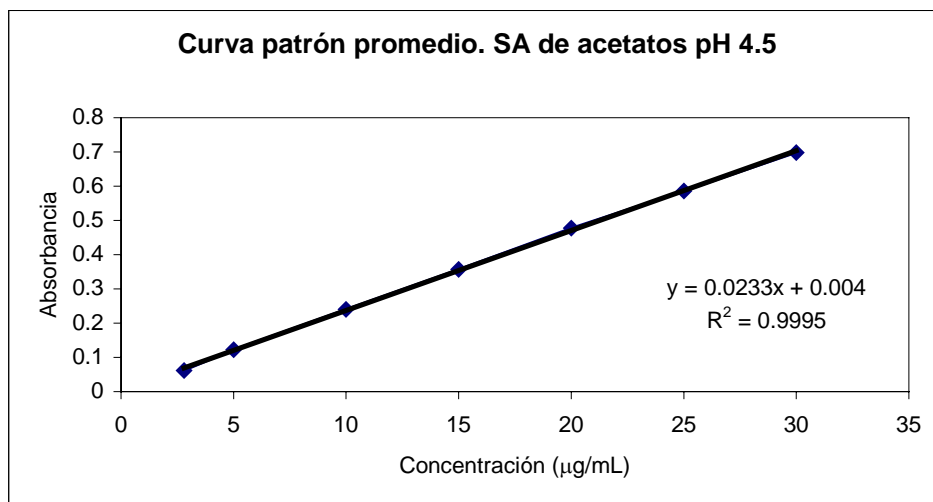


Figura 8. Curva patrón promedio de captopril en SA de acetatos pH 4.5

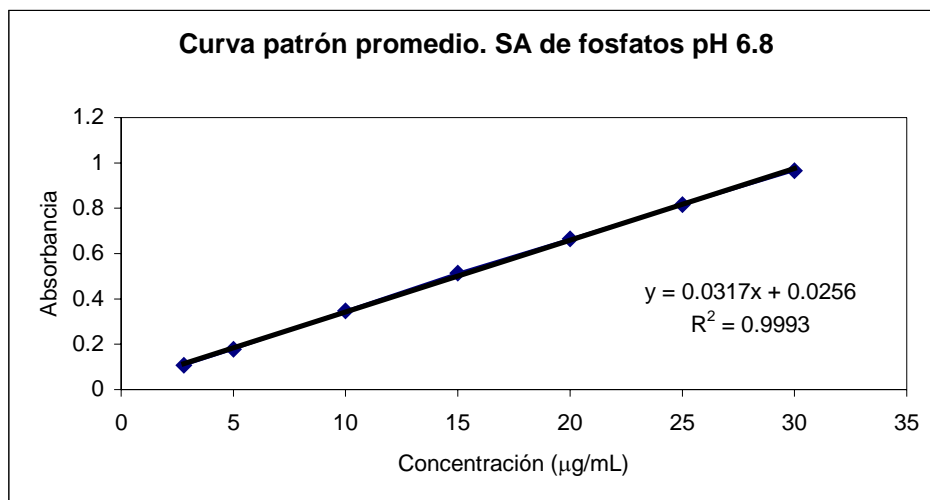


Figura 9. Curva patrón promedio de captopril en SA de fosfatos pH 6.8

✓ Precisión del sistema

La tabla 8 muestra el promedio del factor de respuesta en cada medio de disolución para cada una de las concentraciones de la curva patrón, así como la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación en porcentaje (%CV). Dado que el coeficiente de variación (%CV) del factor de respuesta para todos los puntos del sistema fue menor a 2% en los tres medios de disolución, se comprobó la precisión del sistema.

Tabla 8. Precisión del sistema en los tres medios de disolución

Solución 0.1 N de HCl pH 1.2	Concentración (µg/mL)	Factor de respuesta		
		Media	DE	%CV
	2.8	0.0257	3.6×10^{-4}	1.39
	5.0	0.0265	3.1×10^{-4}	1.15
	10.0	0.0284	1.5×10^{-4}	0.54
	15.0	0.0282	1.4×10^{-4}	0.49
	20.0	0.0276	2.3×10^{-4}	0.82
	25.0	0.0274	1.6×10^{-4}	0.58
	30.0	0.0274	6.7×10^{-5}	0.24
SA acetatos pH 4.5	Concentración (µg/mL)	Factor de respuesta		
		Media	DE	%CV
	2.8	0.0221	3.6×10^{-4}	1.61
	5.0	0.0244	2.0×10^{-4}	0.82
	10.0	0.0240	1.7×10^{-4}	0.72
	15.0	0.0238	1.3×10^{-4}	0.56
	20.0	0.0239	7.6×10^{-5}	0.32
	25.0	0.0234	8.0×10^{-5}	0.34
	30.0	0.0233	3.3×10^{-5}	0.14
SA fosfatos pH 6.8	Concentración (µg/mL)	Factor de respuesta		
		Media	DE	%CV
	2.8	0.0383	5.5×10^{-4}	1.42
	5.0	0.0355	5.0×10^{-4}	1.42
	10.0	0.0347	2.0×10^{-4}	0.58
	15.0	0.0342	2.8×10^{-4}	0.81
	20.0	0.0333	1.4×10^{-4}	0.43
	25.0	0.0327	2.0×10^{-4}	0.63
	30.0	0.0322	2.0×10^{-4}	0.65

4.2.1.2 Influencia del filtro

La tabla 9 muestra la absorbancia de la alícuota sin filtrar (Abs sin filtrar), la absorbancia promedio de las alícuotas filtradas, la desviación estándar (DE), así como el porcentaje de captopril retenido por los filtros. Se encontró que tanto el filtro de teflón como el filtro de membrana no retienen más del 2% de fármaco en los tres medios de disolución por lo que para el estudio puede utilizarse cualquiera de los 2 tipos de filtro. Se decidió utilizar el filtro de teflón debido a que se puede acoplar a las jeringas con las que se muestrea durante la disolución y esto facilita el trabajo

Tabla 9. Porcentaje de captopril retenido por los dos filtros empleados

Solución 0.1N de HCl pH 1.2				
	Filtro de teflón		Filtro de membrana	
	5 µg/mL	30 µg/mL	5 µg/mL	30 µg/mL
Abs sin filtrar	0.163	0.810	0.164	0.824
Media	0.161	0.806	0.161	0.811
DE	5.1×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.9×10^{-3}	1.1×10^{-2}
% Retenido	1.53%	1.43%	1.63%	1.58%
SA de acetatos pH 4.5				
	Filtro de teflón		Filtro de membrana	
	5 µg/mL	30 µg/mL	5 µg/mL	30 µg/mL
Abs sin filtrar	0.157	0.785	0.153	0.797
Media	0.154	0.780	0.150	0.790
DE	2.6×10^{-3}	2.9×10^{-3}	1.9×10^{-3}	5.6×10^{-3}
% Retenido	1.80%	0.62%	1.63%	1.32%
SA de fosfatos pH 6.8				
	Filtro de teflón		Filtro de membrana	
	5 µg/mL	30 µg/mL	5 µg/mL	30 µg/mL
Abs sin filtrar	0.207	0.981	0.210	1.028
Media	0.205	0.972	0.207	1.014
DE	1.1×10^{-2}	5.8×10^{-3}	3.4×10^{-3}	1.1×10^{-2}
% Retenido	1.20%	0.92%	1.51%	1.41%

4.2.1.3 Validación del método

4.2.1.3.1 Selectividad. Producto Innovador

En las figuras 10, 11 y 12 se presentan los resultados de selectividad del producto innovador en los diferentes medios de disolución.

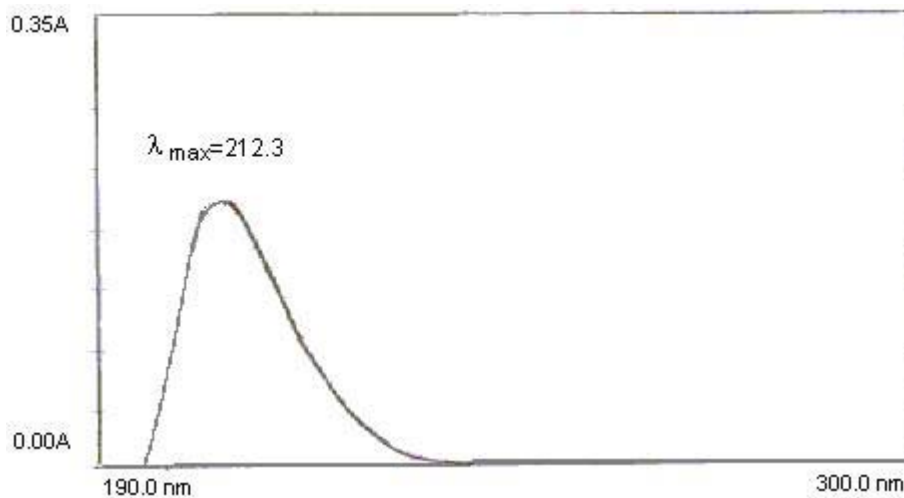


Figura 10. Espectro de absorción del producto innovador en solución 0.1 N de HCl pH 1.2

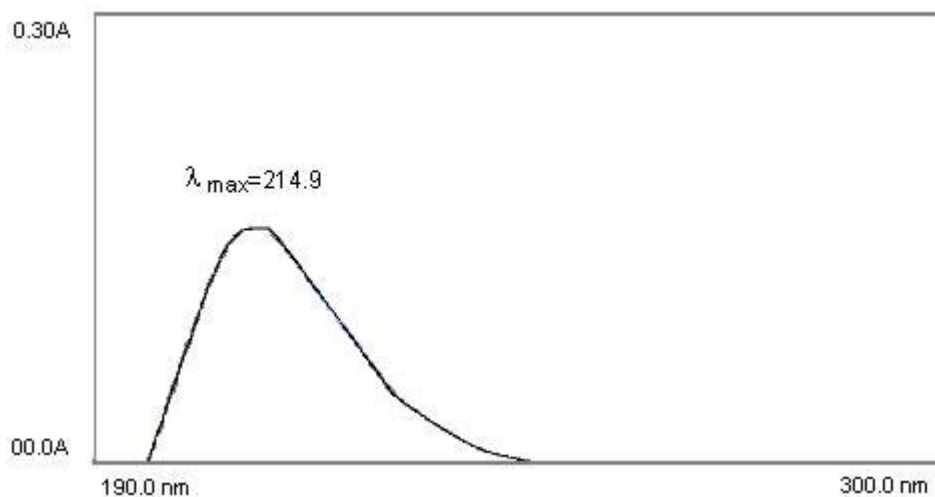


Figura 11. Espectro de absorción del producto innovador en SA de acetatos pH 4.5

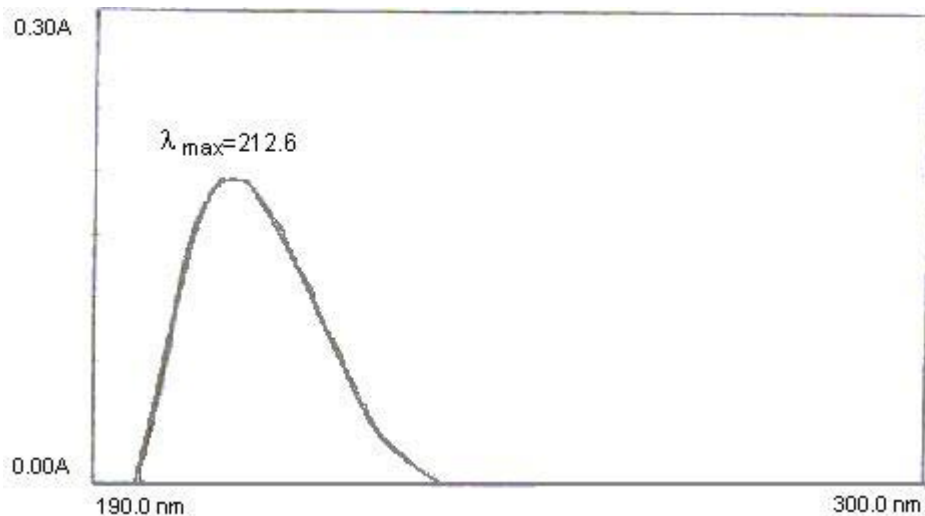


Figura 12. Espectro de absorción del producto innovador en SA de fosfatos 0.05 M pH 6.8

4.2.1.3.2 Validación del método. Producto 1

4.2.1.3.2.1 Validación del método en solución 0.1 N de HCl pH 1.2

- ✓ Linealidad y precisión (repetibilidad)

La tabla 10 muestra la absorbancia promedio del día 1 y 2 de análisis, así como la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación en porcentaje (%CV) de cada concentración de la curva patrón del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2. En las figuras 13 y 14 se muestran las curvas patrón promedio del día 1 y 2 del análisis del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2.

Tabla 10. Linealidad y precisión (repetibilidad) del método de cuantificación de captopril en solución 0.1 N de HCl pH 1.2. Producto 1

Conc. (µg/mL)	Absorbancia promedio		Día 1		Día 2	
	Día 1	Día 2	DE	%CV	DE	%CV
2.8	0.073	0.077	1.0×10^{-3}	1.37	1.2×10^{-3}	1.51
5.0	0.131	0.132	5.8×10^{-4}	0.44	1.5×10^{-3}	1.15
10.0	0.271	0.258	1.5×10^{-3}	0.56	1.7×10^{-3}	0.67
15.0	0.404	0.390	4.0×10^{-3}	1.00	5.9×10^{-3}	1.50
20.0	0.544	0.517	2.6×10^{-3}	0.49	2.0×10^{-3}	0.39
25.0	0.670	0.642	5.8×10^{-4}	0.09	8.7×10^{-3}	1.36
30.0	0.818	0.765	1.5×10^{-2}	1.87	2.3×10^{-3}	0.30
b	-3.9×10^{-3}	6.1×10^{-3}				
m	2.7×10^{-2}	2.5×10^{-2}				
r	0.9998	0.9999				
S y/x	4.2×10^{-3}	2.6×10^{-3}				
ERDR	1.01%	0.64				

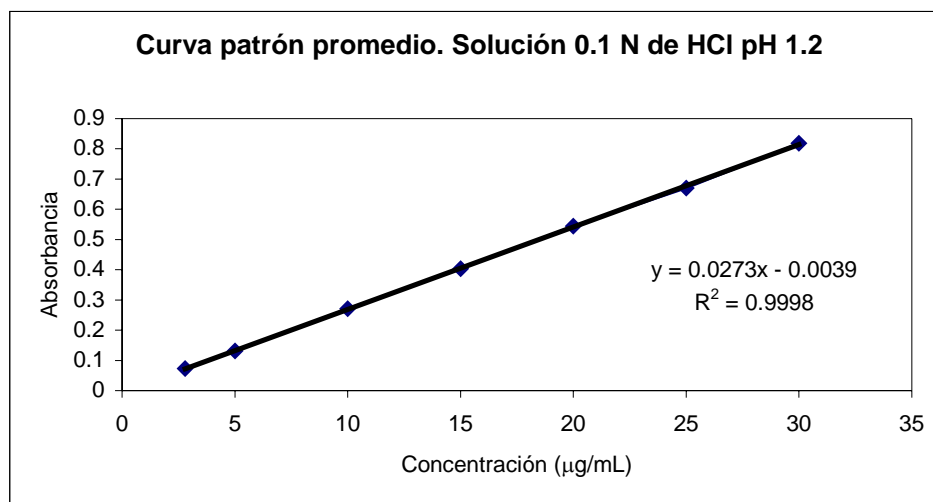


Figura 13. Curva patrón promedio del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2. Día 1.

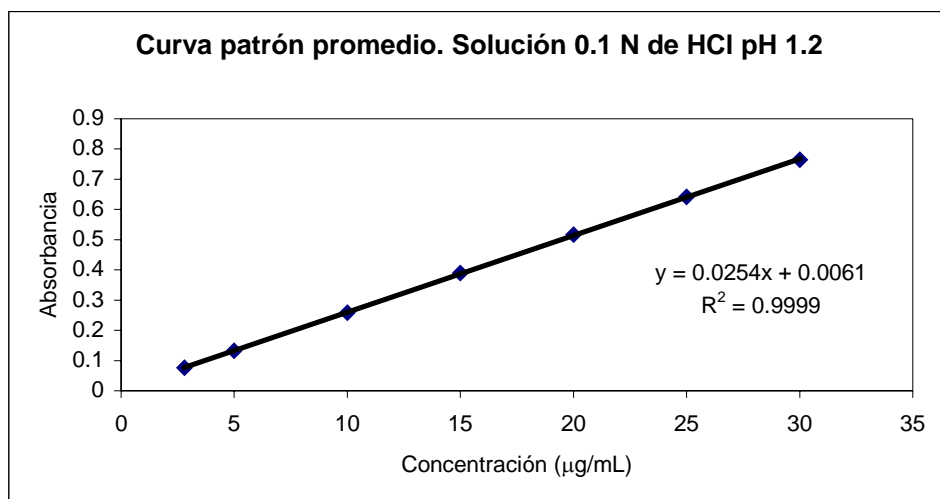


Figura 14. Curva patrón promedio del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2. Día 2.

✓ Exactitud y precisión (reproducibilidad)

La tabla 11 muestra el promedio de la concentración experimental de los dos días de análisis, así como desviación estándar (DE), el coeficiente de variación en porcentaje (%CV) y la desviación estándar relativa (DEA) para cada concentración de la curva patrón del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2.

Tabla 11. Exactitud y precisión (reproducibilidad) del producto 1 en solución 0.1N de HCl pH 1.2

Concentración nominal (µg/mL)	Promedio de la concentración experimental (Día 1 y 2)	DE	%CV	DEA
2.8	2.80	8.1×10^{-2}	2.88	0.05
5.0	4.97	6.5×10^{-2}	1.31	0.63
10.0	10.00	9.6×10^{-2}	0.96	0.01
15.0	15.04	0.1704	1.13	0.24
20.0	20.12	0.1357	0.67	0.59
25.0	24.90	0.2596	1.04	0.41
30.0	30.03	0.2799	0.93	0.09

✓ Selectividad

En la figura 15 se muestra el espectro de absorción del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2 en el intervalo de 190.0 a 300.0 nm.

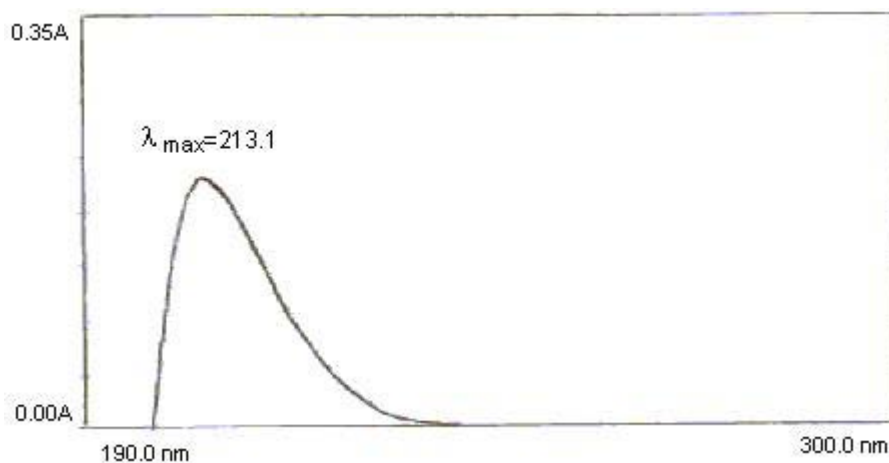


Figura 15. Espectro de absorción del producto 1 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2

4.2.1.3.2.2 Validación del método en solución amortiguadora de acetatos pH 4.5

✓ Linealidad y precisión (repetibilidad)

La tabla 12 muestra la absorbancia promedio del día 1 y 2 de análisis, así como la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación en porcentaje (%CV) de cada concentración de la curva patrón del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5.

Tabla 12. Linealidad y precisión (repetibilidad) del método de cuantificación de captopril en SA de acetatos pH 4.5. Producto 1.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia promedio		Día 1		Día 2	
	Día 1	Día 2	DE	%CV	DE	%CV
2.8	0.077	0.077	5.77×10^{-4}	0.75	1.00×10^{-3}	1.30
5.0	0.127	0.127	5.77×10^{-4}	0.46	2.00×10^{-3}	1.57
10.0	0.246	0.247	1.53×10^{-3}	0.62	2.00×10^{-3}	0.81
15.0	0.366	0.366	2.00×10^{-3}	0.55	1.53×10^{-3}	0.42
20.0	0.484	0.485	1.15×10^{-3}	0.24	2.52×10^{-3}	0.52
25.0	0.592	0.594	1.53×10^{-3}	0.26	2.00×10^{-3}	0.34
30.0	0.720	0.715	1.53×10^{-3}	0.21	7.02×10^{-3}	0.98
b	1.0×10^{-2}	1.2×10^{-2}				
m	2.4×10^{-2}	2.3×10^{-2}				
r	0.9998	0.9999				
S y/x	3.8×10^{-3}	3.0×10^{-3}				
ERDR	1.02%	0.80%				

En las figuras 16 y 17 se muestran las curvas patrón promedio del día 1 y 2 del análisis del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5.

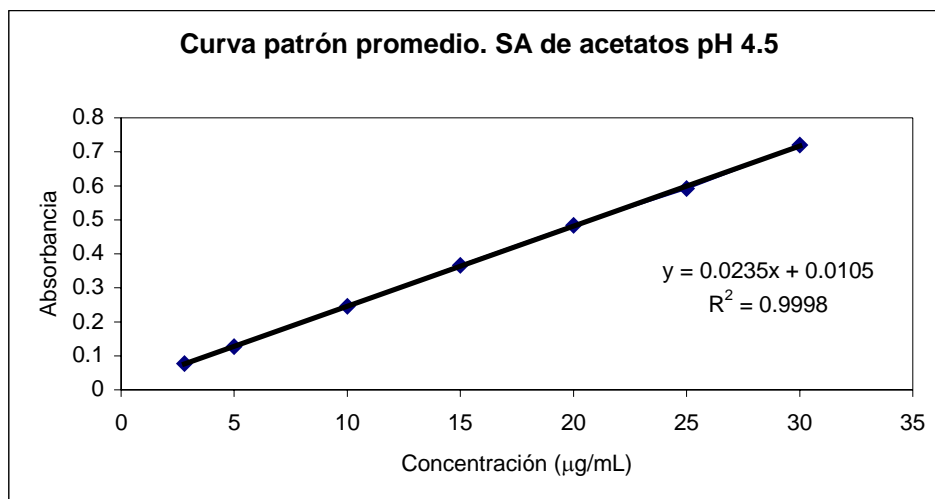


Figura 16. Curva patrón promedio del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5. Día 1

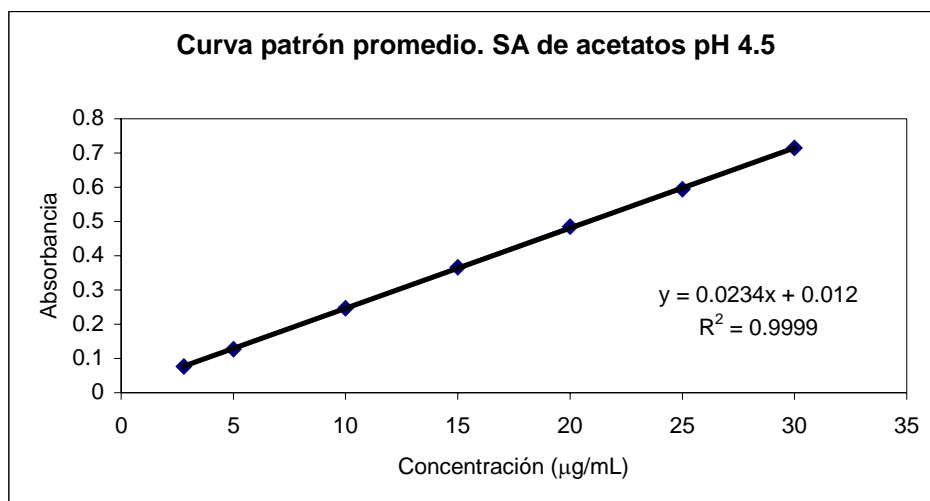


Figura 17. Curva patrón promedio del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5. Día 2

✓ Exactitud y precisión (reproducibilidad)

La tabla 13 muestra el promedio de la concentración experimental de los dos días de análisis, así como desviación estándar (DE), el coeficiente de variación en porcentaje (%CV) y la desviación estándar relativa (DEA) para cada concentración de la curva patrón del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5.

Tabla 13. Exactitud y precisión (reproducibilidad) del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5

Concentración nominal (µg/mL)	Promedio de la concentración experimental (Día 1 y 2)	DE	%CV	DEA
2.8	2.80	5.99×10^{-2}	2.14	0.14
5.0	4.92	2.90×10^{-2}	0.59	1.65
10.0	10.00	5.82×10^{-2}	0.58	0.03
15.0	15.10	4.26×10^{-2}	0.28	0.68
20.0	20.12	7.93×10^{-2}	0.39	0.62
25.0	24.76	0.1181	0.48	0.95
30.0	30.05	0.1517	0.50	0.17

✓ Selectividad

En la figura 18 se muestra el espectro de absorción del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5 en el intervalo de 190.0 a 300.0 nm.

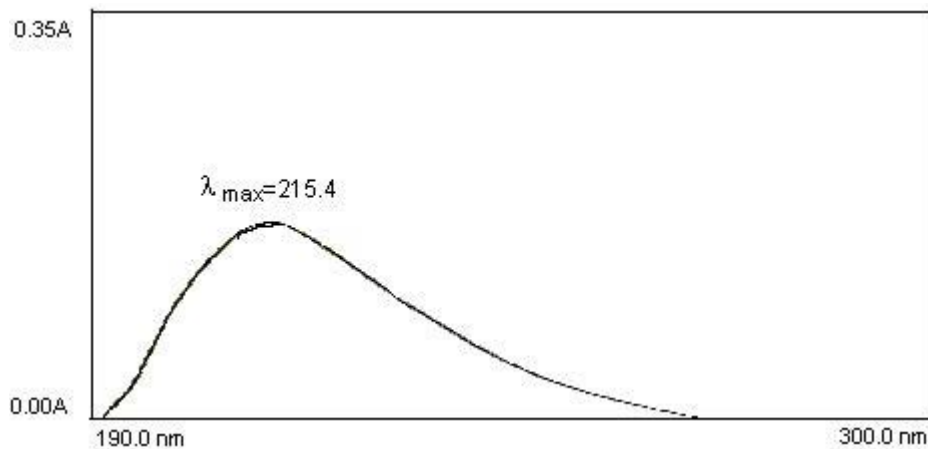


Figura 18. Espectro de absorción del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5.

4.2.1.3.2.3 Validación del método en solución amortiguadora (SA) de fosfatos 0.05 M pH 6.8

✓ Linealidad y precisión (repetibilidad)

La tabla 14 muestra la absorbancia promedio del día 1 y 2 de análisis, así como la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación en porcentaje (%CV) de cada concentración de la curva patrón del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8.

Tabla 14. Linealidad y precisión (repetibilidad) del método en SA de fosfatos 0.05M pH 6.8. Producto 1.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia promedio		Día 1		Día 2	
	Día 1	Día 2	DE	%CV	DE	%CV
2.8	0.101	0.100	1.00×10^{-3}	0.99	5.77×10^{-4}	0.58
5.0	0.170	0.170	1.15×10^{-3}	0.68	1.53×10^{-3}	0.90
10.0	0.335	0.333	1.53×10^{-3}	0.46	2.08×10^{-3}	0.62
15.0	0.501	0.501	2.65×10^{-3}	0.53	2.08×10^{-3}	0.42
20.0	0.659	0.661	1.53×10^{-3}	0.23	4.93×10^{-3}	0.75
25.0	0.813	0.812	2.08×10^{-3}	0.26	5.77×10^{-4}	0.07
30.0	0.974	0.973	2.31×10^{-3}	0.24	1.53×10^{-3}	0.16
b	1.3×10^{-2}	1.3×10^{-2}				
m	3.2×10^{-2}	3.2×10^{-2}				
r	0.9999	0.9998				
S y/x	4.3×10^{-3}	5.0×10^{-3}				
ERDR	0.84%	0.95%				

En las figuras 19 y 20 se muestran las curvas patrón promedio del día 1 y 2 del análisis del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8.

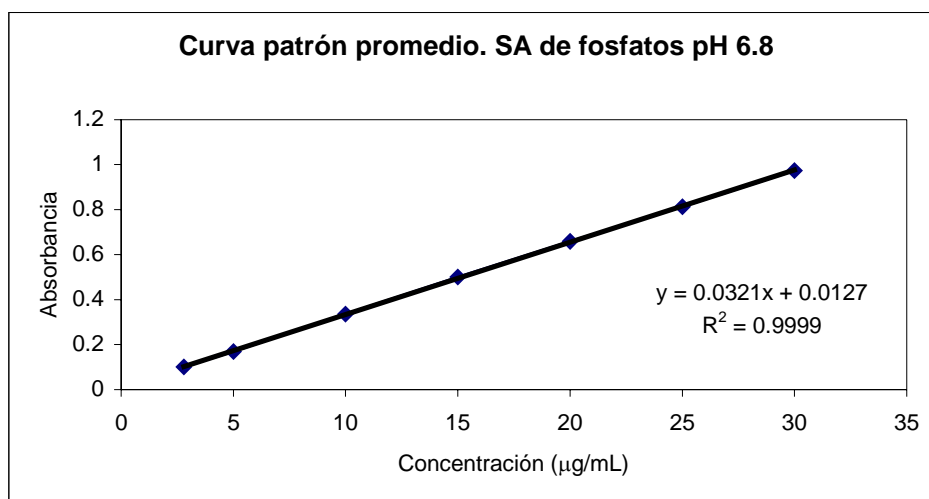


Figura 19. Curva patrón promedio del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8. Día 1

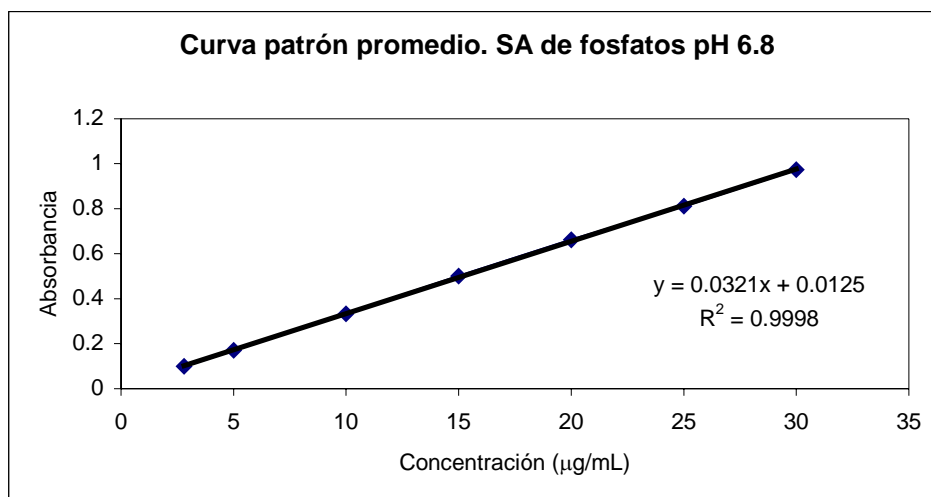


Figura 20. Curva patrón promedio del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8. Día 2

✓ Exactitud y precisión (reproducibilidad)

La tabla 15 muestra el promedio de la concentración experimental de los dos días de análisis, así como la desviación estándar (DE), el coeficiente de variación en porcentaje (%CV) y la desviación estándar relativa (DEA) para cada concentración de la curva patrón del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8.

Tabla 15. Exactitud y precisión (reproducibilidad) del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8

Concentración nominal (µg/mL)	Promedio de la concentración experimental (Día 1 y 2)	DE	%CV	DEA
2.8	2.75	3.21×10^{-2}	1.17	1.70
5.0	4.92	3.64×10^{-2}	0.74	1.68
10.0	10.04	5.15×10^{-2}	0.51	0.43
15.0	15.24	5.95×10^{-2}	0.39	1.59
20.0	20.21	0.1271	0.63	1.07
25.0	24.95	7.80×10^{-2}	0.31	0.19
30.0	30.00	9.68×10^{-2}	0.32	0.01

✓ Selectividad

En la figura 21 se muestra el espectro de absorción del producto 1 en SA de acetatos pH 4.5 en el intervalo de 190.0 a 300.0 nm.

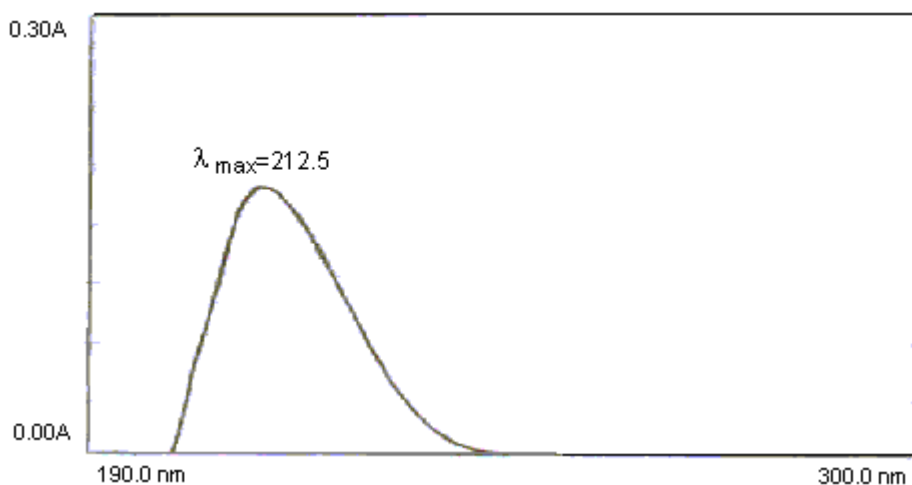


Figura 21. Espectro de absorción del producto 1 en SA de fosfatos pH 6.8

Dado que el coeficiente de regresión promedio de las curvas preparadas en los tres medios de disolución fue mayor o igual a 0.99 y el error relativo debido a la regresión (ERDR) no es mayor a 3% (tablas 10, 12 y 14) se demuestra la linealidad del método en los tres diferentes valores de pH en los días 1 y 2 de análisis.

La precisión (repetibilidad) queda comprobada porque el coeficiente de variación (%CV) de los datos de linealidad es menor al 3% para cada concentración de la curva en el día 1 y 2, en los tres medios de disolución (tablas 10, 12 y 14)

En las tablas 11, 13 y 15 se observa que la desviación estándar relativa (DEA) de los datos de concentración experimental promedio de los días 1 y 2 de análisis; para cada uno de los puntos de la curva fue menor a 3%, lo que demuestra la exactitud del método analítico en los tres medios de disolución. Así mismo, el coeficiente de variación (%CV) global de los datos de concentración experimental promedio no fue

mayor al 3% (tablas 11, 13 y 15), lo que se confirma la precisión del método analítico en los tres medios de disolución (reproducibilidad intralaboratorio).

Dado que los espectros de absorción del producto 1 en los tres medios de disolución (figuras 15, 18 y 21), muestran que solo hay una longitud de onda de máxima absorción y no existe ninguna otra cresta en el espectro; por lo que se comprueba que el método es selectivo para el captopril ante otros componentes de la muestra (excipientes).

4.2.1.3.3 Selectividad. Producto 2

En las figuras 22, 23 y 24 se presentan los resultados de selectividad del producto 2 en los diferentes medios de disolución.

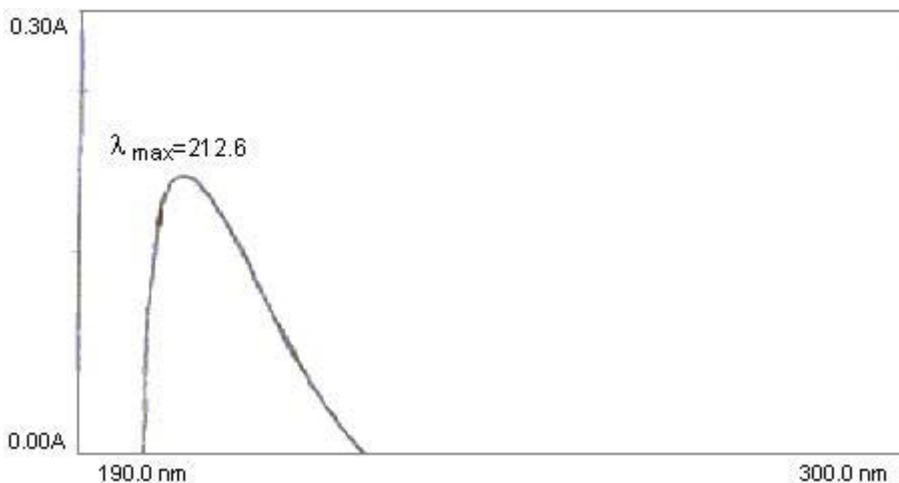


Figura 22. Espectro de absorción del producto 2 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2

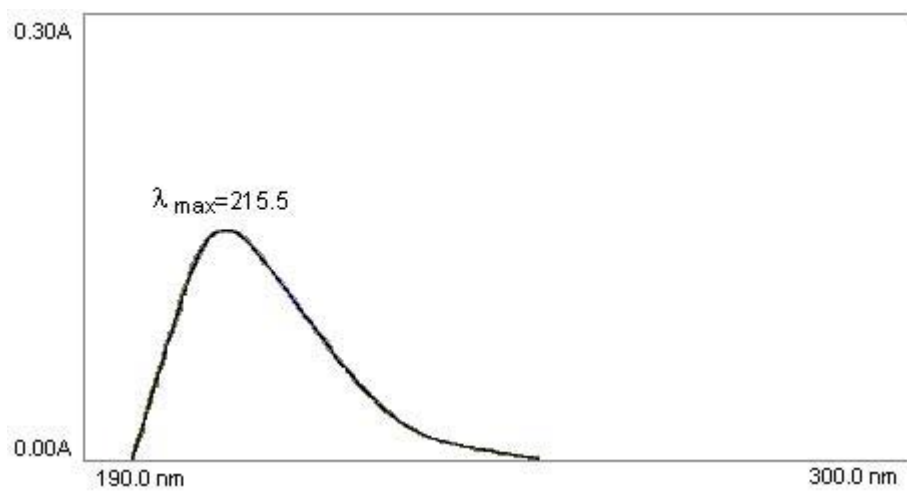


Figura 23. Espectro de absorción del producto 2 en SA de acetatos pH 4.5

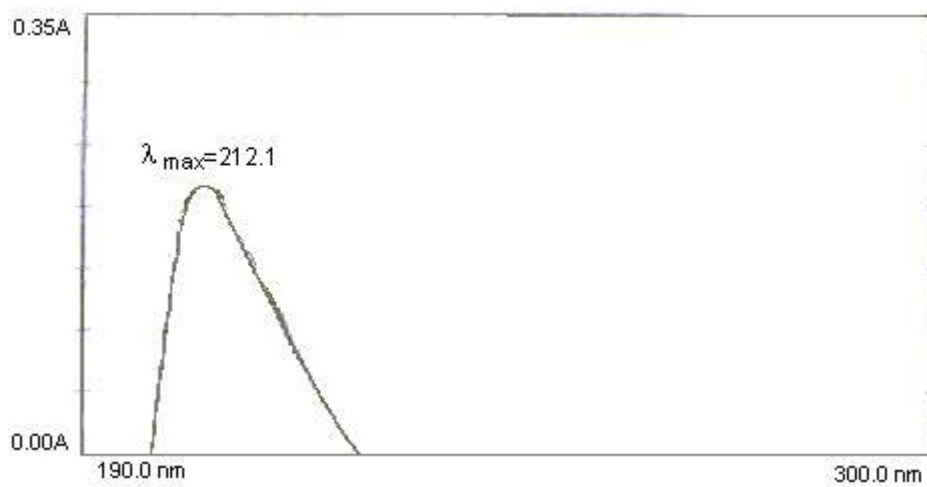


Figura 24. Espectro de absorción del producto 2 en SA de fosfatos 0.05 M pH 6.8

4.2.1.3.4 Selectividad. Producto 3

En las figuras 25, 26 y 27 se presentan los resultados de selectividad del producto 3 en los diferentes medios de disolución.

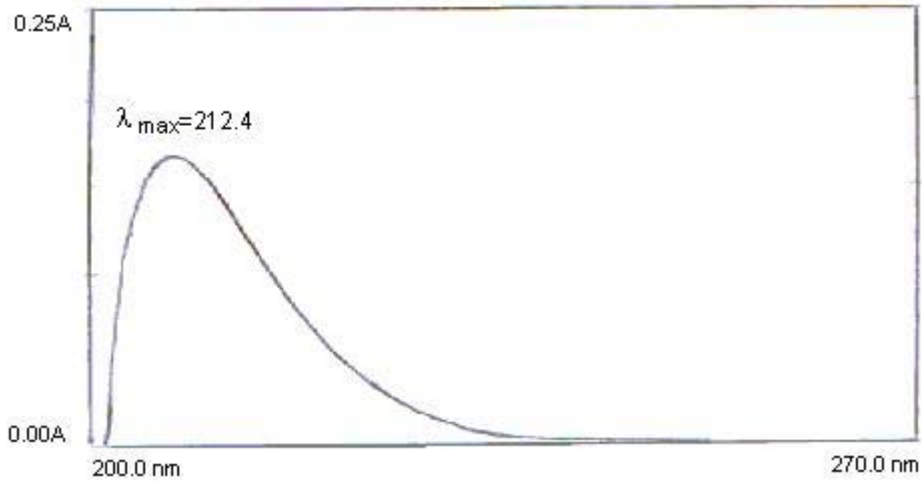


Figura 25. Espectro de absorción del producto 3 en solución 0.1 N de HCl pH 1.2

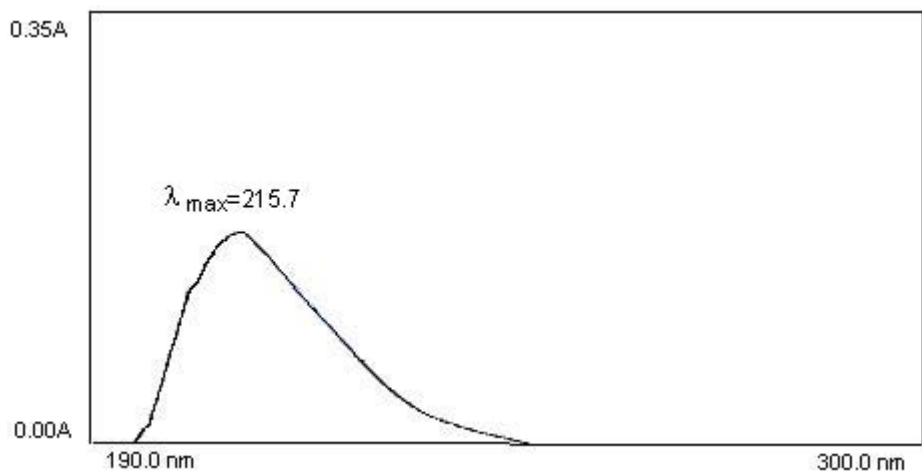


Figura 26. Espectro de absorción del producto 3 en SA de fosfatos 0.05 M pH 6.8

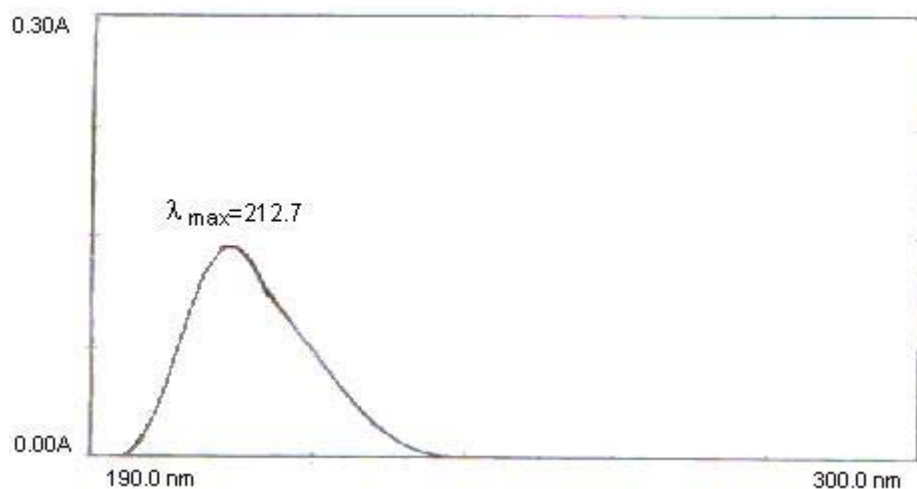


Figura 27. Espectro de absorción del producto 3 en SA de fosfatos 0.05 M pH 6.8

En los espectros de absorción de los productos innovador (figuras 10, 11 y 12), producto 2 (figuras 22, 23 y 24) y producto 3 (figuras 25, 26 y 27) se puede observar que solo hay un pico, el cual corresponde a la longitud de onda de máxima absorción de captopril, además el espectro es uniforme y el pico está bien definido lo que prueba que no existe interferencia alguna por parte de los excipientes para llevar a cabo la correcta detección de captopril.

4.3 Disolución

En la tabla 16 se muestra el promedio del porcentaje disuelto en cada medio de disolución de cada uno de los productos bajo estudio. Se evaluaron seis unidades de dosificación del producto innovador y 12 de cada producto de prueba.

Tabla 16. Resultados de disolución

Medio de disolución	Solución 0.1N de ácido clorhídrico pH 1.2		Solución amortiguadora de acetatos pH 4.5		Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8		
t (min)	% Disuelto	%CV	% Disuelto	%CV	% Disuelto	%CV	
Producto Innovador	0	0	0	0	0	0	
	5	100.63 ± 3.89	3.87	103.78 ± 2.55	2.46	89.64 ± 7.06	7.87
	10	96.39 ± 2.91	3.02	103.71 ± 2.31	2.23	93.57 ± 3.86	4.12
	15	97.08 ± 4.45	4.59	104.60 ± 2.01	1.92	94.81 ± 3.10	3.27
	20	95.79 ± 2.57	2.68	104.89 ± 3.48	3.31	96.17 ± 2.30	2.39
	25	99.98 ± 3.99	4.00	103.75 ± 2.47	2.38	96.56 ± 2.39	2.47
	30	96.89 ± 3.80	3.92	103.73 ± 2.18	2.10	97.50 ± 2.43	2.50
Producto 1 "Enlace"	0	0	0	0	0	0	
	5	42.58 ± 6.08	14.29	31.39 ± 5.46	17.39	35.98 ± 5.30	14.73
	10	94.31 ± 9.20	9.75	72.79 ± 6.35	8.72	77.50 ± 6.10	7.87
	15	106.26 ± 6.09	5.73	99.95 ± 7.23	7.24	93.38 ± 6.12	6.56
	20	107.19 ± 5.50	5.13	104.05 ± 3.71	3.56	98.28 ± 6.40	6.51
	25	110.30 ± 6.29	5.70	106.79 ± 4.66	4.37	100.68 ± 6.13	6.08
	30	108.79 ± 5.91	5.43	105.73 ± 4.98	4.71	101.33 ± 6.31	6.23
Producto 2 "Tensil"	0	0	0	0	0	0	
	5	28.65 ± 4.83	16.86	18.47 ± 2.58	13.95	22.65 ± 4.03	17.77
	10	65.64 ± 4.16	6.34	48.91 ± 4.24	8.66	51.50 ± 4.51	8.76
	15	98.42 ± 6.63	6.74	78.21 ± 7.07	9.03	82.38 ± 7.51	9.12
	20	103.31 ± 3.80	3.68	87.43 ± 5.24	5.99	91.20 ± 6.11	6.70
	25	105.49 ± 3.13	2.97	91.35 ± 4.21	4.61	94.69 ± 3.96	4.18
	30	107.36 ± 4.19	3.91	92.31 ± 4.40	4.77	95.90 ± 2.70	2.82
Producto 3 "Bioxil"	0	0	0	0	0	0	
	5	101.33 ± 4.26	4.20	96.72 ± 1.75	1.81	91.97 ± 6.54	7.11
	10	102.98 ± 5.64	5.47	97.24 ± 1.36	1.40	95.12 ± 5.64	5.93
	15	103.73 ± 5.16	4.98	97.26 ± 1.67	1.72	97.05 ± 4.86	5.01
	20	103.55 ± 6.44	6.22	96.69 ± 2.38	2.46	99.16 ± 3.87	3.91
	25	104.05 ± 5.21	5.01	97.34 ± 1.40	1.44	99.11 ± 5.15	5.20
	30	103.91 ± 4.66	4.48	98.51 ± 1.56	1.58	99.87 ± 3.87	3.88

En las figuras 28, 29, 30 y 31 se presentan los perfiles de disolución de cada producto en los tres medios de disolución. La línea punteada indica disolución muy rápida.

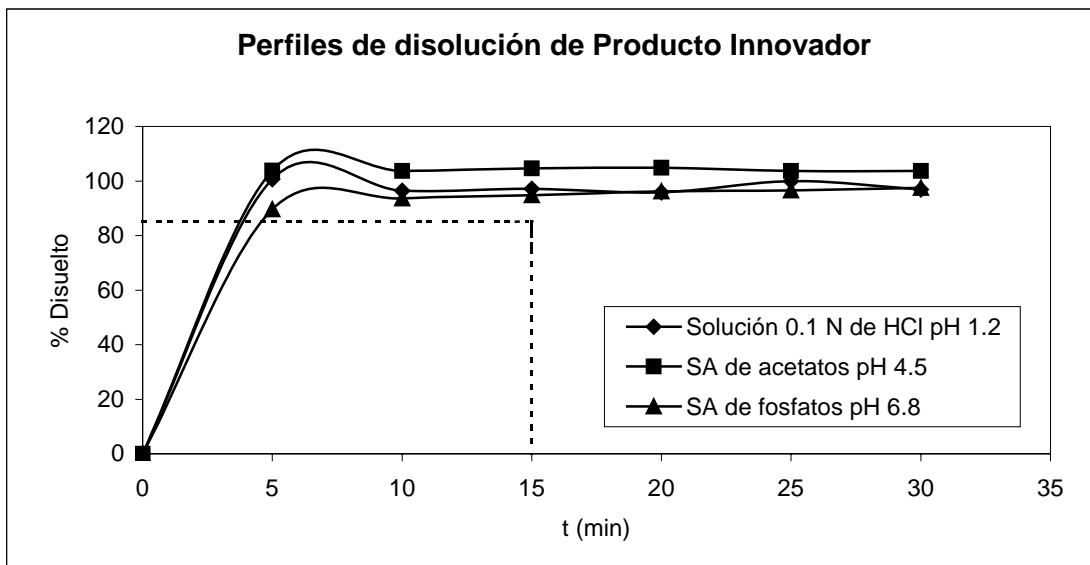


Figura 28. Perfiles de disolución del producto innovador en los 3 medios de disolución

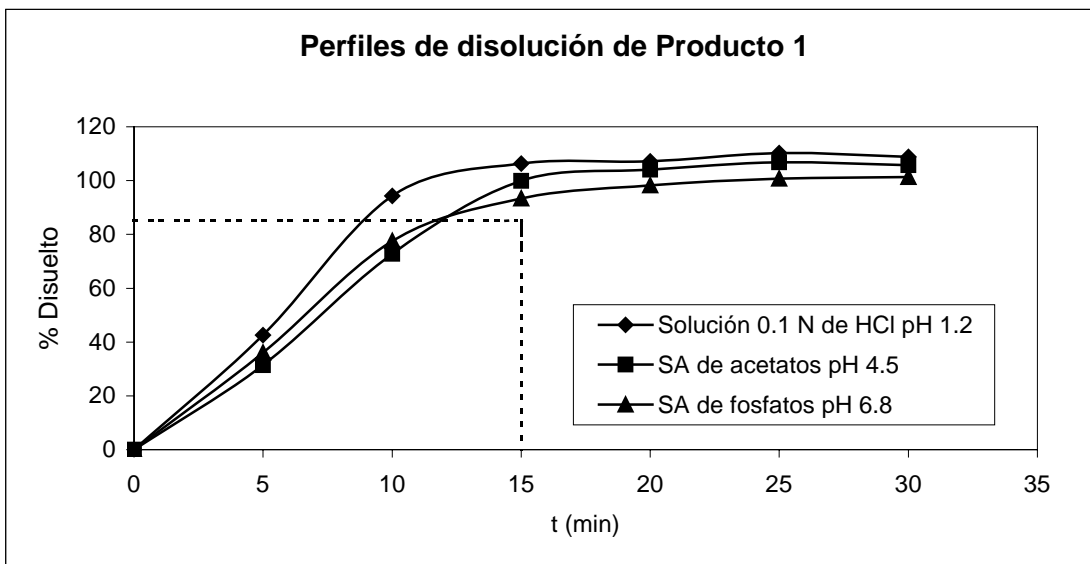


Figura 29. Perfiles de disolución del producto 1 en los 3 medios de disolución

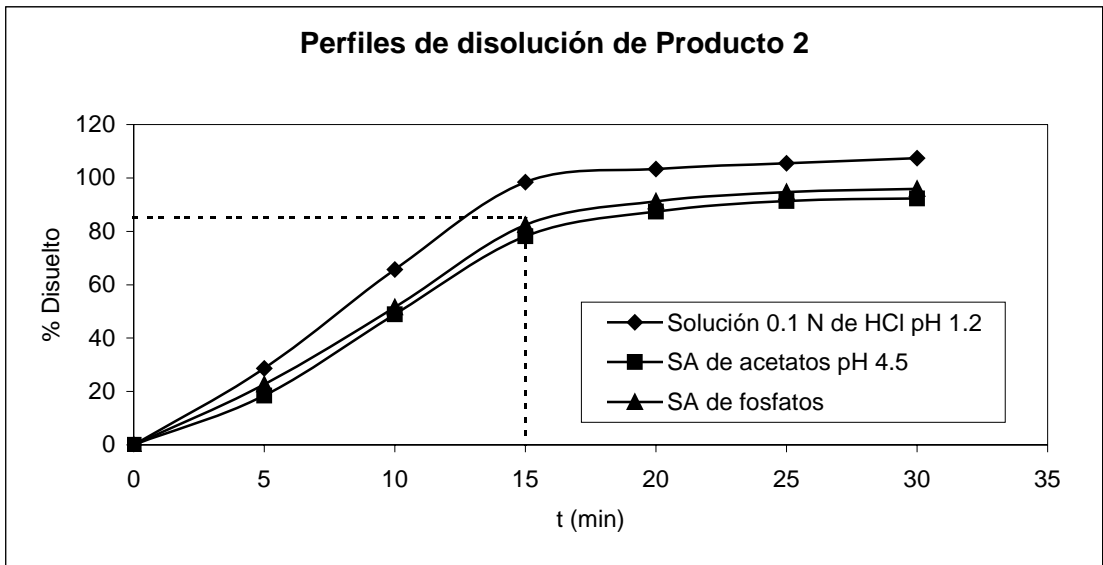


Figura 30. Perfiles de disolución del producto 2 en los 3 medios de disolución

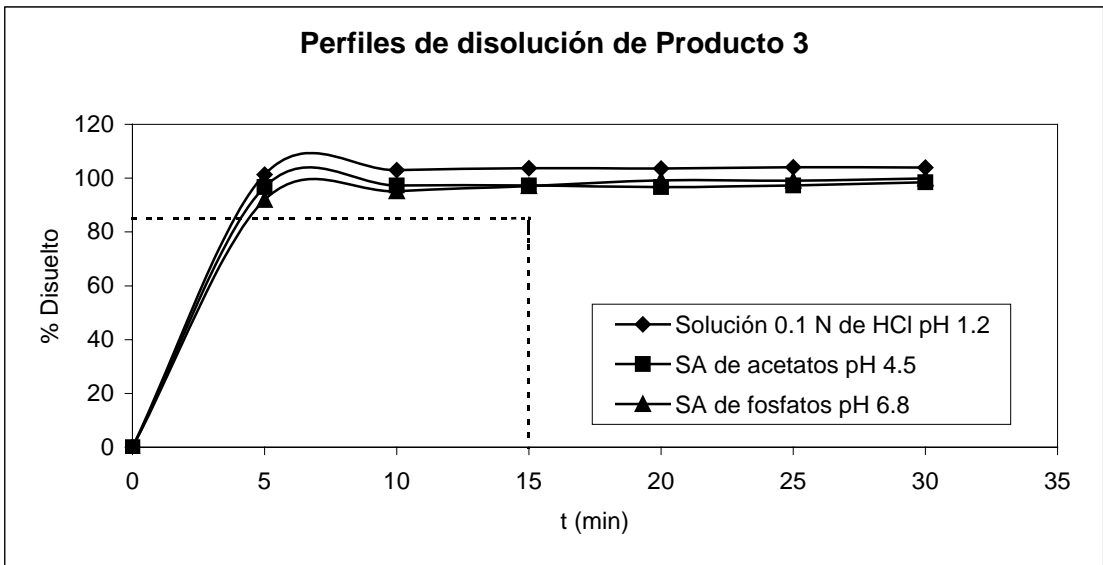


Figura 31. Perfiles de disolución del producto 3 en los 3 medios de disolución

En las figuras 32, 33 y 34 se presentan los perfiles de disolución de los 4 productos en los diferentes medios de disolución.

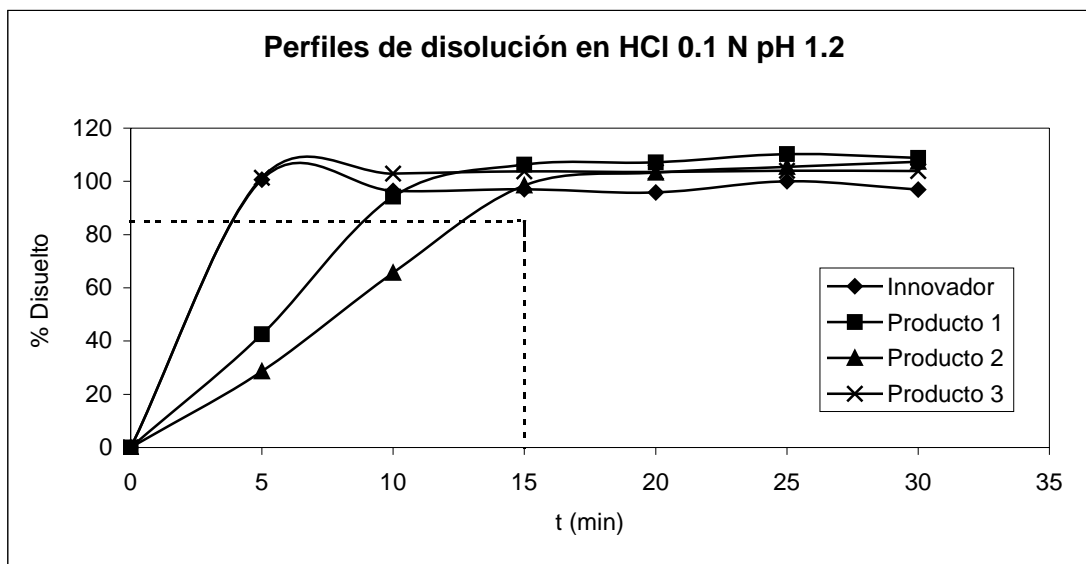


Figura 32. Perfiles de disolución de los 4 productos en solución 0.1 N de HCl pH 1.2

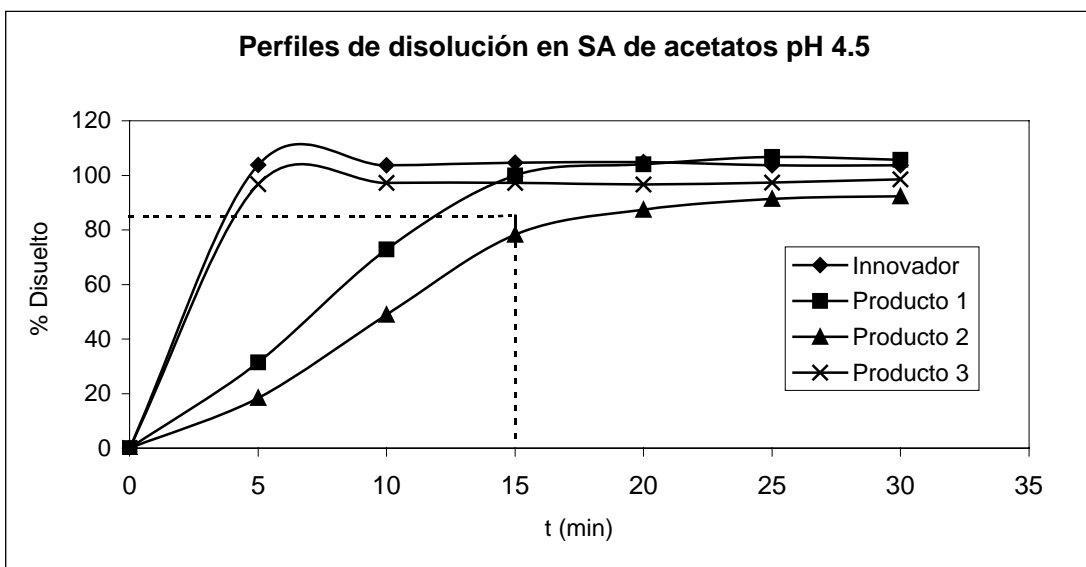


Figura 33. Perfiles de disolución de los 4 productos en SA de acetatos pH 4.5

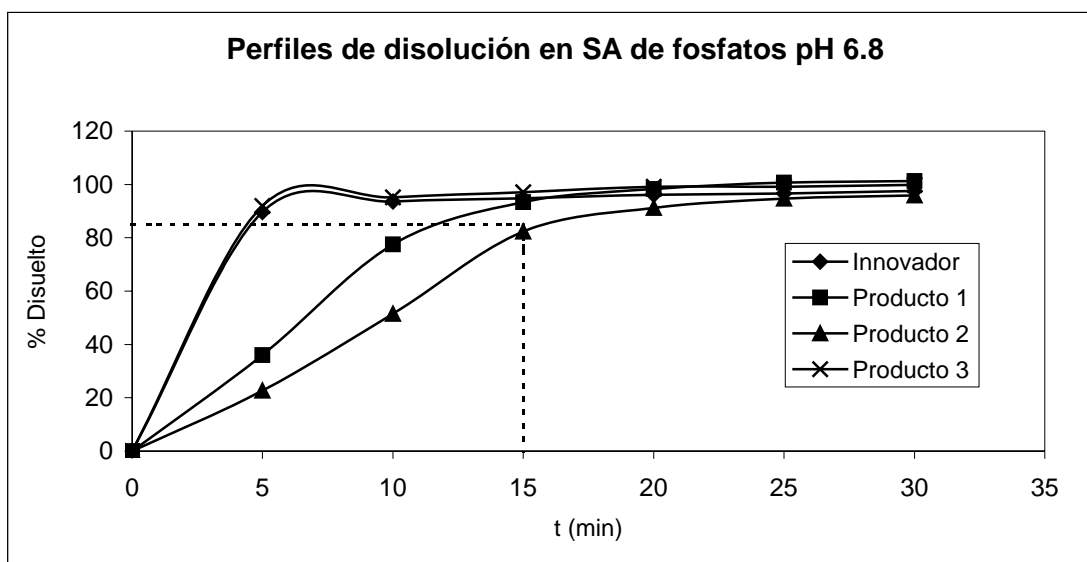


Figura 34. Perfiles de disolución de los 4 productos en SA de fosfatos pH 6.8

En la figura 32 se observa que el producto innovador y los 3 productos de prueba presentan disolución muy rápida en solución 0.1 N de HCl pH 1.2, esto quiere decir que liberan el 85 % o más de principio activo en 15 minutos. De esta forma se asume que el fármaco se comporta como una solución y estará disponible a ese pH. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, no es necesario aplicar la prueba f_2 si la disolución es clasificada como muy rápida. Actualmente, en México sería necesario aplicar la prueba f_2 .

El captopril es una molécula diprótica que tiene pka de 3.7 y 9.8; es por ello que se esperaba un alto porcentaje de fármaco disuelto, ya que al encontrarse en un ambiente de bajo pH, la molécula es capaz de disociarse y solubilizarse, lo cual también ocurre en valores altos de pH.

La figura 33 se muestra que en la SA de acetatos pH 4.5 el producto innovador y los productos de prueba 1 y 3 presentaron disolución muy rápida. Por otra parte, el producto 2 solo presenta disolución rápida (liberación de más del 85% de la cantidad

indicada en el marbete en 30 min), aún así, no se puede comparar con el producto innovador empleando la prueba f_2 porque desde el minuto 5 de la disolución, el producto innovador tiene más del 100% disuelto. Es importante mencionar que después de 30 minutos, el producto 2 libera 92.31% de fármaco, tal como se indica en la tabla 16.

La tabla 16 y la figura 34 muestran que en la SA de fosfatos pH 6.8 el producto innovador y los productos de prueba 1 y 3 presentan disolución muy rápida. Esto quiere decir que liberan el 85 % o más de principio activo en 15 minutos. Así que se asume que a pH 6.8 estos productos tiene un comportamiento parecido al de una solución en el tracto gastrointestinal y se encontrarán disponibles para ser absorbidos. El producto 2 mostró disolución rápida a este pH pero no hay datos suficientes para llevar a cabo la comparación con el perfil de disolución del producto innovador puesto que este último liberó cerca del 90% del principio activo en los primeros 5 minutos, como se observa en la tabla 16. Si se contara con una lista de los excipientes que contiene cada producto, se podría revisar en la literatura la posible interferencia de los excipientes con la liberación o la absorción del fármaco.

Dado que la mayoría de los productos presentaron disolución muy rápida, no fue posible realizar el modelado de los datos para encontrar el tipo de cinética de disolución correspondiente.

En estos últimos años se ha propuesto ampliar la exención de los estudios de bioequivalencia a las formas farmacéuticas de liberación inmediata con principios activos que de acuerdo al BCS sean Clase III. La Organización Mundial de la Salud apoya esta propuesta, siempre y cuando se cumplan ciertos criterios, entre los que se encuentran: que el fármaco presente disolución muy rápida, evaluándolo en medios de disolución con valores de pH de 1.2, 4.5 y 6.8; que se realice una evaluación del riesgo y que la autoridad sanitaria le de importancia al tipo de excipientes empleados en la formulación.

Los resultados del presente estudio muestran que todos los productos liberaron más del 85% del principio activo antes del tiempo de vaciamiento gástrico promedio (de 15 a 20 minutos bajo condiciones de ayuno ¹), por lo que la disolución no será el paso limitante en la absorción del captopril. Además, el fármaco no se precipitará después de su disolución debido a su buena solubilidad bajo todas las condiciones de pH fisiológico. La rápida disolución de los productos garantiza que el captopril estará disponible tiempo suficiente a lo largo del intestino para ser absorbido (el tiempo de paso a través del intestino delgado aproximadamente es de 4 horas).



5.0 CONCLUSIONES

-
-
- Los productos comerciales estudiados cumplen con las especificaciones farmacopéicas de valoración y uniformidad de dosis (por variación de masa).
 - El método analítico empleado para la cuantificación de captopril fue lineal, exacto y preciso en los tres medios de disolución.
 - El producto innovador y los 3 productos de prueba presentan disolución muy rápida en solución 0.1N de HCl pH 1.2.
 - En solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 y en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 el producto innovador y los productos de prueba 1 y 3 presentaron disolución muy rápida.
 - Debido a que los productos 1 y 3 presentaron disolución muy rápida en los tres medios de disolución no se requiere una comparación de los perfiles de disolución mediante la prueba f_2 .
 - En solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 y en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8, el producto 2 se disolvió más lentamente que los demás productos bajo estudio. Se le podría recomendar al fabricante verificar su proceso de manufactura. En última instancia sería conveniente llevar a cabo un estudio *in vivo* que determine si las diferencias son significativas.
 - La evaluación del comportamiento de disolución del captopril realizada en este trabajo, será importante para a futuro, establecer los criterios en la de ampliación de la exención de los estudios de BE de los principios activos conteniendo fármacos Clase III.



6.0 NOTAS

-
-
- 1) "Guidance for Industry. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System". Food and Drug Administration. 2000.
 - 2) A. Dokoumetzidis, P. Macheras. "A Century of Dissolution Research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System". *International Journal of Pharmaceutics*. 321 (2006) 1-11
 - 3) J. Swarbrick, J. Boylan. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 2nd ed. Marcel Dekker. United States. Volume 1. 2002.
 - 4) "Guidance for Industry. Dissolution testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms". Food and Drug Administration. 1997.
 - 5) "Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos". Octava edición. Secretaría de Salud. México. Volumen 1 y 2. 2004
 - 6) "Norma Oficial Mexicana 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 realicen las pruebas". Diario Oficial. Secretaría de Salud. México, 1999.
 - 7) A. C. Guyton. *Textbook of Medical Physiology*. 17th ed. Elsevier Saunders. China, 2006
 - 8) J. M. Aiache. *Biofarmacia. El Manual Moderno*. México, 1983.
 - 9) "Annex 8. Proposal to Waive in vivo Bioequivalence Requirements for WHO Model List of Essential Medicines Immediate-Release, Solid Oral Dosage Forms". World Health Organization, 2006.
 - 10) "The Merck Index". 13th ed. Merck & Company. United States. 2001.
 - 11) N. A. Kasim, M. Whitehouse, M. Bermejo, G. L. Amidon, *et al.* "Molecular Properties of WHO Essential Drugs and Provisional Biopharmaceutical Classification". *Molecular Pharmaceutics*. 1(1):85-96, 2003
 - 12) "PLM Diccionario de Especialidades Farmacéuticas". Edición 53. México, 2007.
 - 13) M. Hu, G.L. Amidon. "Passive and Carrier-Mediated Intestinal Absorption Components of Captopril". *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1988 Dec;77(12):1007-11

-
-
- 14) P. J. Worland, O. H. Drummer, B. Jarrott. "Gastric and Intestinal Absorption of Captopril in Acutely and Chronically Treated Rats: Comparison with Salicylic Acid" *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006- 73(12):1755-1758
 - 15) M. De la Garza. "Evaluación del Perfil de Disolución del productos Conteniendo Propranolol, Metronidazol y Captopril de Acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutico". Tesis. UNAM. México, 2006.

7.0 BIBLIOGRAFÍA

Aïache J. M. *Biofarmacia*. El Manual Moderno. México, 1983.

Blume H. H., Schug B. S., “The Biopharmaceutics Classification System (BCS): Class III Drugs — Better Candidates for BA/BE Waiver?”. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 9, 117–121 (1999).

Cheng C. L., Yu L. X., Lee H. L., *et al.* “Biowaiver Extension Potential to BCS Class III High Solubility-Low Permeability Drugs: Bridging Evidence for Metformin Immediate-Release Tablet”. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 22 (2004) 297–304

De la Garza M. “Evaluación del Perfil de Disolución del productos Conteniendo Propranolol, Metronidazol y Captopril de Acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutico”. Tesis. UNAM, México, 2006.

Dokoumetzidis A., Macheras P. “A Century of Dissolution Research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System”. *International Journal of Pharmaceutics*. 321 (2006) 1-11

Food and Drug Administration. “Guidance for Industry. Dissolution testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms”. 1997.

Food and Drug Administration. “Guidance for Industry. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate- Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System”. 2000.

Friend D. R. “Drug Delivery to the Small Intestine”. *Current Gastroenterology Reports* 2004, 6:371-376.

Guyton A. C. *Textbook of Medical Physiology*. 17th ed. Elsevier Saunders. China, 2006.

Horter D., Dressman J. B. “Influence of Physicochemical Properties on Dissolution of Drugs in the Gastrointestinal Tract”. *Advanced Drug Delivery Reviews* 46 (2001) 75–87

Hu M., Amidon G. L. “Passive and Carrier-Mediated Intestinal Absorption Components of Captopril”. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1988 Dec;77(12):1007-11

Kasim N. A., Whitehouse M., Bermejo M., Amidon G. L., *et al.* “Molecular Properties of WHO Essential Drugs and Provisional Biopharmaceutical Classification”. *Molecular Pharmaceutics*. 1(1):85-96, 2003

Merck & Company. “The Merck Index”. 13th ed. United States. 2001.

PLM Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Edición 53. México, 2007.

Rezende K. R., Mundima I. M., Teixeira L. S., *et al.* "Determination of Captopril in Human Plasma, Using Solid Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography, Coupled to Mass Spectrometry: Application to Bioequivalence Study". *Journal of Chromatography B*, 2007 (850) 59–67

Secretaría de Salud. "Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos". Octava edición. México. Volumen 1 y 2. 2004.

Secretaría de Salud. "Norma Oficial Mexicana 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 realicen las pruebas". Diario Oficial. México, 1999.

Secretaría de Salud. "Relación de Especialidades Farmacéuticas Susceptibles de Incorporarse al Catálogo de Medicamentos Genéricos". México, 2008.

Storey D. E. "The Role of Dissolution Testing in the Design of Immediate Release Dosage Forms". *Drug Information Journal*, Vol. 30, pp. 1039–1044, 1996.

Swarbrick J., Boylan J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 2nd ed. Marcel Dekker. United States. Volume 1. 2002.

Worland P. J., Drummer O. H., Jarrott B. "Gastric and Intestinal Absorption of Captopril in Acutely and Chronically Treated Rats: Comparison With Salicylic Acid" *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006- 73(12):1755-1758

World Health Organization. "Annex 8. Proposal to Waive In Vivo Bioequivalence Requirements for WHO Model List of Essential Medicines Immediate-Release, Solid Oral Dosage Forms". 2006.

Yan Wu, D.O. Kildsig, E.S. "Effect of Hydrodynamic Environment on Tablets Dissolution Rate" *Pharmaceutical Development and Technology*, Vol. 9, No. 1, pp. 25-37, 2004.

Yu L. X., Amidon G. L., Polli J. E., *et al.* "Biopharmaceutics Classification System: The Scientific Basis for Biowaiver Extensions". *Pharmaceutical Research*, Vol. 19, No. 7, July 2002.

Yu L. X., Lipkab J. R., *et al.* "Transport Approaches to the Biopharmaceutical Design of Oral Drug Delivery Systems: Prediction of Intestinal Absorption". *Advanced Drug Delivery Reviews* 19 (1996) 359-376

8.0 APÉNDICE

I. Datos individuales de uniformidad de dosis por variación de masa

Tableta	Producto Innovador		Producto 1		Producto 2		Producto 3	
	Masa (g)	%Capt.	Masa (g)	%Capt.	Masa (g)	%Capt.	Masa (g)	%Capt.
1	0.2008	104.0	0.1489	105.8	0.1822	107.5	0.2992	100.6
2	0.2024	104.8	0.1537	109.2	0.1812	106.9	0.3040	102.2
3	0.2060	106.7	0.1563	111.1	0.1804	106.4	0.3097	104.2
4	0.1987	102.9	0.1505	106.9	0.1802	106.3	0.3120	104.9
5	0.2044	105.9	0.1599	113.6	0.1817	107.2	0.2970	99.9
6	0.2042	105.8	0.1548	110.0	0.1803	106.4	0.3165	106.4
7	0.2029	105.1	0.1545	109.8	0.1792	105.7	0.3067	103.1
8	0.1960	101.5	0.1543	109.6	0.1819	107.3	0.3124	105.1
9	0.1950	101.0	0.1515	107.7	0.1802	106.3	0.3069	103.2
10	0.2031	105.2	0.1559	110.8	0.1779	104.9	0.3046	102.4
	X	104.3	X	109.5	X	106.5	X	103.2
	DE	1.9	DE	2.2	DE	0.8	DE	2.0
	%CV	1.8	%CV	2.0	%CV	0.7	%CV	2.0

II. Absorbancia de las tres curvas patrón en cada medio de disolución para linealidad del sistema

Solución 0.1 N de HCl pH 1.2			
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2.8	0.072	0.073	0.071
5.0	0.133	0.131	0.134
10.0	0.283	0.284	0.286
15.0	0.425	0.421	0.424
20.0	0.548	0.557	0.552
25.0	0.690	0.686	0.682
30.0	0.819	0.821	0.823
b	1.1×10^{-3}	6.0×10^{-4}	1.7×10^{-3}
m	0.275	0.275	2.8×10^{-2}
r	0.9993	0.9994	0.9993
S y/x	7.84×10^{-3}	7.31×10^{-3}	8.13×10^{-3}
ERDR	1.84%	1.72%	1.91%
SA de acetatos pH 4.5			
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2.8	0.063	0.061	0.062
5.0	0.122	0.123	0.121
10.0	0.238	0.241	0.241
15.0	0.355	0.359	0.357
20.0	0.477	0.476	0.479
25.0	0.588	0.584	0.586
30.0	0.697	0.698	0.699
b	3.6×10^{-3}	4.7×10^{-3}	3.7×10^{-3}
m	2.3×10^{-2}	2.3×10^{-2}	2.3×10^{-2}
r	0.9996	0.9994	0.9995
S y/x	5.1×10^{-3}	6.1×10^{-3}	5.8×10^{-3}
ERDR	1.41%	1.68%	1.61%
SA de fosfatos pH 6.8			
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2.8	0.109	0.106	0.107
5.0	0.178	0.180	0.175
10.0	0.345	0.349	0.347
15.0	0.517	0.515	0.509
20.0	0.667	0.667	0.662
25.0	0.815	0.822	0.812
30.0	0.968	0.971	0.959
b	2.6×10^{-2}	2.5×10^{-2}	2.6×10^{-2}
m	3.2×10^{-2}	3.2×10^{-2}	3.2×10^{-2}
r	0.9993	0.9994	0.9993
S y/x	9.6×10^{-3}	8.7×10^{-3}	9.4×10^{-3}
ERDR	1.87%	1.70%	1.85%

III. Factor de respuesta en la precisión del sistema

Solución 0.1 N de HCl pH 1.2			SA de acetatos pH 4.5			SA de fosfatos pH 6.8		
Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3
0.0257	0.0261	0.0254	0.0225	0.0218	0.0221	0.0389	0.0379	0.0382
0.0266	0.0262	0.0268	0.0244	0.0246	0.0242	0.0356	0.0360	0.0350
0.0283	0.0284	0.0286	0.0238	0.0241	0.0241	0.0345	0.0349	0.0347
0.0283	0.0281	0.0283	0.0237	0.0239	0.0238	0.0345	0.0343	0.0339
0.0274	0.0279	0.0276	0.0239	0.0238	0.0240	0.0334	0.0334	0.0331
0.0276	0.0274	0.0273	0.0235	0.0234	0.0234	0.0326	0.0329	0.0325
0.0273	0.0274	0.0274	0.0232	0.0233	0.0233	0.0323	0.0324	0.0320

IV. Absorbancia de las alícuotas filtradas para determinar la influencia del filtro

Solución 0.1 N de HCl pH 1.2			
Filtro de teflón		Filtro de membrana	
5 µg/mL	30 µg/mL	5 µg/mL	30 µg/mL
0.166	0.801	0.161	0.819
0.157	0.828	0.159	0.798
0.156	0.802	0.164	0.796
0.158	0.796	0.163	0.821
0.168	0.808	0.160	0.817
0.158	0.800	0.161	0.815
SA de acetatos pH 4.5			
Filtro de teflón		Filtro de membrana	
5 µg/mL	30 µg/mL	5 µg/mL	30 µg/mL
0.154	0.778	0.150	0.782
0.156	0.779	0.153	0.785
0.154	0.785	0.149	0.791
0.152	0.782	0.148	0.788
0.158	0.780	0.151	0.794
0.151	0.777	0.152	0.779
SA de fosfatos pH 6.8			
Filtro de teflón		Filtro de membrana	
5 µg/mL	30 µg/mL	5 µg/mL	30 µg/mL
0.216	0.981	0.207	1.025
0.206	0.976	0.201	1.005
0.198	0.972	0.205	1.015
0.195	0.973	0.210	0.996
0.193	0.967	0.210	1.021
0.219	0.965	0.208	1.019

V. Absorbancia de las curvas patrón en la validación del método

Solución 0.1 N de HCl pH 1.2						
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia Día 1			Absorbancia Día 2		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2.8	0.073	0.072	0.074	0.078	0.076	0.076
5.0	0.131	0.131	0.132	0.134	0.131	0.132
10.0	0.271	0.269	0.272	0.260	0.257	0.257
15.0	0.406	0.399	0.406	0.394	0.383	0.392
20.0	0.545	0.541	0.546	0.519	0.515	0.517
25.0	0.670	0.671	0.670	0.636	0.638	0.652
30.0	0.809	0.836	0.810	0.766	0.766	0.762
b	-1.5×10^{-3}	-9.7×10^{-3}	-5.7×10^{-4}	8.9×10^{-3}	3.9×10^{-3}	5.4×10^{-3}
m	2.7×10^{-2}	2.8×10^{-2}	2.7×10^{-2}	2.5×10^{-2}	2.5×10^{-2}	2.6×10^{-2}
r	0.9999	0.9995	0.9999	0.9998	1	0.9995
S y/x	3.7×10^{-3}	9.4×10^{-3}	3.9×10^{-3}	4.1×10^{-3}	1.8×10^{-3}	6.1×10^{-3}
ERDR	0.90%	2.24%	0.94%	1.05%	0.45%	1.53%
SA de acetatos pH 4.5						
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia Día 1			Absorbancia Día 2		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2.8	0.078	0.077	0.077	0.076	0.078	0.077
5.0	0.126	0.127	0.127	0.125	0.129	0.127
10.0	0.244	0.246	0.247	0.245	0.247	0.249
15.0	0.364	0.368	0.366	0.368	0.366	0.365
20.0	0.485	0.483	0.483	0.485	0.487	0.482
25.0	0.592	0.594	0.591	0.594	0.592	0.596
30.0	0.719	0.722	0.720	0.722	0.714	0.708
b	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.1×10^{-2}	8.9×10^{-3}	1.4×10^{-2}	1.4×10^{-2}
m	2.4×10^{-2}	2.4×10^{-2}	2.4×10^{-2}	2.4×10^{-2}	2.3×10^{-2}	2.3×10^{-2}
r	0.9998	0.9998	0.9998	0.9998	0.9998	0.9999
S y/x	3.9×10^{-3}	3.7×10^{-3}	4.1×10^{-3}	4.1×10^{-3}	3.9×10^{-3}	3.1×10^{-3}
ERDR	1.06%	0.99%	1.11%	1.09%	1.05%	0.83%
SA de fosfatos pH 6.8						
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia Día 1			Absorbancia Día 2		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3
2.8	0.101	0.102	0.100	0.100	0.100	0.101
5.0	0.169	0.169	0.171	0.169	0.170	0.172
10.0	0.335	0.334	0.337	0.335	0.331	0.334
15.0	0.504	0.499	0.500	0.500	0.499	0.503
20.0	0.659	0.661	0.658	0.659	0.658	0.667
25.0	0.812	0.815	0.811	0.812	0.811	0.812
30.0	0.973	0.977	0.973	0.973	0.972	0.975
b	1.32×10^{-2}	1.15×10^{-2}	1.35×10^{-2}	1.21×10^{-2}	1.15×10^{-2}	1.37×10^{-2}
m	3.21×10^{-2}	3.23×10^{-2}	3.21×10^{-2}	3.21×10^{-2}	3.21×10^{-2}	3.22×10^{-2}
r	0.9998	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	0.9997
S y/x	5.51×10^{-3}	3.46×10^{-3}	4.25×10^{-3}	4.36×10^{-3}	3.99×10^{-3}	6.47×10^{-3}
ERDR	1.09%	0.68%	0.84%	0.76%	0.79%	1.27%

VI. Porcentaje de captopril disuelto en los diferentes tiempos de muestreo

Solución 0.1 N de HCl pH 1.2

Producto innovador

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	X	SD	%CV
5	102.90	103.49	105.26	94.93	98.17	99.06	100.63	3.89	3.87
10	91.57	98.32	96.86	96.50	95.05	100.05	96.39	2.91	3.02
15	91.08	98.14	96.68	104.19	93.99	98.41	97.08	4.45	4.59
20	92.92	97.66	93.30	96.77	94.68	99.39	95.79	2.57	2.68
25	98.22	98.93	98.89	104.95	94.49	104.40	99.98	3.99	4.00
30	91.16	102.48	95.56	97.32	95.75	99.07	96.89	3.80	3.92

Producto 1

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	34.84	35.92	54.19	38.34	41.02	45.32
10	81.33	86.68	94.26	91.50	82.43	93.14
15	102.85	104.21	99.31	103.99	94.39	102.97
20	106.81	103.95	98.78	104.52	97.30	106.41
25	110.23	103.43	100.88	105.31	105.18	104.83
30	108.66	106.82	98.27	103.74	103.35	104.83

							De las 12 unidades de dosificación		
t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	X	SD	%CV
5	36.21	47.68	38.35	49.28	44.48	45.28	42.58	6.08	14.29
10	108.08	96.74	86.08	105.50	105.74	100.17	94.31	9.20	9.75
15	110.45	115.73	112.45	107.61	111.54	109.67	106.26	6.09	5.73
20	111.76	115.20	114.02	108.40	108.65	110.45	107.19	5.50	5.13
25	112.55	118.07	120.28	115.44	112.57	114.89	110.30	6.29	5.70
30	112.29	117.81	118.21	108.18	111.53	111.77	108.79	5.91	5.43

Producto 2

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	37.73	29.76	27.01	25.64	23.17	31.69
10	66.43	65.02	69.37	61.17	60.61	65.30
15	98.22	94.09	100.62	103.56	94.30	103.07
20	102.27	98.15	108.19	108.15	107.82	106.59
25	110.87	100.83	107.65	107.08	107.55	107.39
30	113.01	104.04	108.99	114.56	107.81	108.19

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	De las 12 unidades de dosificación		
							X	SD	%CV
5	25.14	23.71	32.00	36.29	25.43	26.29	28.65	4.83	16.86
10	60.37	62.07	67.52	72.37	72.03	65.50	65.64	4.16	6.34
15	95.69	94.00	101.70	93.00	113.84	88.95	98.42	6.63	6.74
20	99.34	102.71	103.67	98.90	104.57	99.34	103.31	3.80	3.68
25	104.09	101.31	103.11	105.32	108.20	102.41	105.49	3.13	2.97
30	101.87	101.59	104.50	107.27	111.53	104.91	107.36	4.19	3.91

Producto 3

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	102.56	93.35	102.84	100.05	95.86	96.98
10	101.73	91.68	103.11	100.32	98.64	97.25
15	110.56	95.27	103.11	101.98	98.36	96.15
20	108.09	90.88	103.94	100.06	98.36	96.97
25	103.99	94.97	107.49	101.97	96.72	98.34
30	100.47	96.33	110.20	102.24	98.89	97.80

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	De las 12 unidades de dosificación		
							X	SD	%CV
5	107.74	102.36	100.37	102.93	104.63	106.33	101.33	4.26	4.20
10	111.69	110.25	104.32	106.31	107.45	102.94	102.98	5.64	5.47
15	107.21	110.81	104.88	105.47	108.01	102.94	103.73	5.16	4.98
20	115.29	109.42	106.00	105.47	106.33	101.83	103.55	6.44	6.22
25	109.47	111.64	106.55	106.58	107.72	103.22	104.05	5.21	5.01
30	107.82	109.43	105.72	106.58	106.62	104.87	103.91	4.66	4.48

Solución amortiguadora de acetatos pH 4.5

Producto innovador

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	X	SD	%CV
5	105.47	107.40	99.98	104.10	102.45	103.27	103.78	2.55	2.46
10	105.59	106.69	103.64	100.93	101.20	104.21	103.71	2.31	2.23
15	106.79	106.54	102.67	105.12	101.85	104.60	104.60	2.01	1.92
20	108.26	109.63	104.67	100.92	101.69	104.17	104.89	3.48	3.31
25	107.04	105.99	102.37	100.49	104.23	102.41	103.75	2.47	2.38
30	107.16	102.64	103.29	100.60	104.34	104.39	103.73	2.18	2.10

Producto 1

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	39.94	26.20	35.46	30.68	36.96	32.77
10	76.49	71.06	82.70	80.30	72.61	74.66
15	104.55	104.45	110.18	105.41	81.77	97.12
20	106.02	107.68	106.06	107.76	104.39	99.47
25	106.31	112.06	109.28	108.05	115.20	104.14
30	105.44	111.48	108.99	102.53	116.65	100.37

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	De las 12 unidades de dosificación		
							X	SD	%CV
5	32.47	37.51	23.88	23.29	30.10	27.44	31.39	5.46	17.39
10	71.66	67.57	72.20	57.47	74.89	71.93	72.79	6.35	8.72
15	102.43	97.16	100.04	94.09	101.85	100.35	99.95	7.23	7.24
20	105.92	94.54	104.70	104.87	104.76	102.39	104.05	3.71	3.56
25	108.82	96.56	104.12	105.74	108.24	102.97	106.79	4.66	4.37
30	106.80	97.14	105.85	104.59	104.49	104.41	105.73	4.98	4.71

Producto 2

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	22.34	16.44	21.75	19.98	18.21	20.27
10	50.21	42.55	55.20	50.79	46.67	47.86
15	82.31	66.48	87.01	80.55	70.60	82.58
20	98.56	83.60	96.58	89.55	83.66	87.51
25	100.00	88.79	98.31	93.59	89.14	90.98
30	99.43	92.81	99.46	95.88	92.01	92.98

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	De las 12 unidades de dosificación		
							X	SD	%CV
5	21.02	14.95	17.84	16.11	14.95	17.84	18.47	2.58	13.95
10	52.36	51.18	52.92	41.12	45.72	50.33	48.91	4.24	8.66
15	78.67	83.21	81.52	72.29	67.73	85.51	78.21	7.07	9.03
20	85.78	84.91	84.64	82.81	82.80	88.63	87.43	5.24	5.99
25	90.87	85.76	90.30	87.90	88.18	92.31	91.35	4.21	4.61
30	89.46	87.17	86.93	87.06	94.08	90.34	92.31	4.40	4.77

Producto 3

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	98.89	95.82	96.43	99.20	96.43	98.28
10	97.78	97.76	95.62	97.17	98.99	97.77
15	99.10	98.17	95.12	98.19	98.79	97.58
20	98.61	97.07	97.64	98.30	97.39	98.29
25	98.42	96.88	97.15	98.41	97.20	98.70
30	98.53	98.48	98.45	99.11	98.20	98.51

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	De las 12 unidades de dosificación		
							X	SD	%CV
5	95.41	93.95	94.53	95.70	98.61	97.45	96.72	1.75	1.81
10	96.09	96.08	95.22	96.38	99.30	98.72	97.24	1.36	1.40
15	95.05	95.04	95.04	97.93	98.26	98.83	97.26	1.67	1.72
20	95.15	93.71	90.84	96.61	97.80	98.93	96.69	2.38	2.46
25	95.54	94.67	95.79	97.86	98.47	99.04	97.34	1.40	1.44
30	97.92	95.06	97.88	98.25	99.72	101.99	98.51	1.56	1.58

Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8

Producto innovador

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	X	SD	%CV
5	77.42	85.99	94.78	95.42	89.42	94.78	89.64	7.06	7.87
10	88.16	89.92	98.08	96.38	95.49	93.39	93.57	3.86	4.12
15	92.50	90.24	99.04	96.70	95.38	94.98	94.81	3.10	3.27
20	96.39	92.86	98.94	97.65	97.17	94.03	96.17	2.30	2.39
25	96.92	92.97	98.84	99.22	96.65	94.76	96.56	2.39	2.47
30	99.11	94.11	99.78	99.33	97.80	94.87	97.50	2.43	2.50

Producto 1

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	37.78	34.98	39.99	39.39	30.56	33.57
10	76.28	77.06	74.30	78.28	73.05	75.66
15	89.17	87.77	94.13	94.94	83.56	91.52
20	93.11	91.52	98.66	96.52	87.11	98.03
25	95.27	93.48	103.37	102.40	89.66	99.79
30	97.81	93.28	102.01	98.50	90.83	100.96

							De las 12 unidades de dosificación		
t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	X	SD	%CV
5	38.82	40.38	43.07	32.11	37.25	23.84	35.98	5.30	14.73
10	77.33	74.00	93.81	70.39	83.99	75.89	77.50	6.10	7.87
15	90.02	89.79	96.35	102.31	105.31	95.66	93.38	6.12	6.56
20	95.18	99.12	98.43	107.26	107.19	107.20	98.28	6.40	6.51
25	98.12	101.64	98.98	106.94	108.40	110.16	100.68	6.13	6.08
30	100.19	103.05	99.53	111.85	107.00	110.94	101.33	6.31	6.23

Producto 2

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	26.32	21.22	30.35	16.33	24.83	25.25
10	58.42	51.63	55.91	50.34	56.72	55.67
15	89.29	84.19	83.21	79.32	92.64	85.07
20	102.03	92.75	89.48	88.51	95.14	92.17
25	102.24	96.28	95.50	91.00	98.26	96.12
30	102.03	96.07	94.88	94.72	98.05	96.12

							De las 12 unidades de dosificación		
t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	X	SD	%CV
5	25.51	18.05	23.09	21.68	20.67	18.45	22.65	4.03	17.77
10	49.18	45.33	45.56	46.15	52.76	50.34	51.50	4.51	8.76
15	89.07	74.25	76.87	73.47	91.05	70.09	82.38	7.51	9.12
20	99.38	85.15	89.36	82.20	94.82	83.57	91.20	6.11	6.70
25	95.83	88.70	94.88	92.06	96.60	88.90	94.69	3.96	4.18
30	97.40	90.86	95.47	94.41	96.79	94.19	95.90	2.70	2.82

Producto 3

t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6
5	98.72	98.95	97.08	96.38	92.17	90.30
10	101.97	100.35	100.34	99.64	96.36	91.23
15	101.97	99.65	101.96	102.64	98.90	95.63
20	104.27	102.41	103.11	104.02	99.59	99.53
25	95.59	104.93	106.53	105.85	101.19	99.53
30	104.68	103.11	103.81	104.71	102.10	99.53

							De las 12 unidades de dosificación		
t (min)	V1	V2	V3	V4	V5	V6	X	SD	%CV
5	88.95	91.09	80.38	86.59	82.74	100.31	91.97	6.54	7.11
10	90.65	93.22	84.00	93.20	89.77	100.73	95.12	5.64	5.93
15	92.35	98.31	87.39	96.59	90.19	99.04	97.05	4.86	5.01
20	95.09	97.26	91.61	96.80	96.72	99.46	99.16	3.87	3.91
25	94.25	98.72	90.98	98.27	92.32	101.14	99.11	5.15	5.20
30	96.54	98.93	94.73	96.81	93.57	99.89	99.87	3.87	3.88