



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE DISOLUCIÓN INTRÍNSECA DE METRONIDAZOL Y DE
PERFILES DE DISOLUCIÓN DE TABLETAS COMERCIALES DE
METRONIDAZOL**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

CÉSAR ALONSO RORÍGUEZ RAMÍREZ



MÉXICO, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS:

AGRADECEMOS EL APOYO BRINDADO AL PRESENTE TRABAJO POR EL PROYECTO PAPIME (PE207815) "**OPTIMIZACIÓN** DE LA ENSEÑANZA EXPERIMENTAL DE BIOFARMACIA EN LA CARRERA DE QFB DE LA FACULTAD DE QUIMICA DE LA **UNAM**".

AGRADECIMIENTOS:

A MI MADRE, POR CADA PEQUEÑA Y GRAN MUESTRA DE SU AMOR Y CARIÑO.

A MI PADRE, POR ENSEÑARME EL VALOR DEL TRABAJO Y EL ESFUERZO.

A MI HERMANO, POR SU APOYO Y AYUDA EN CADA MOMENTO.

To see a World in a Grain of Sand
And a Heaven in a Wild Flower
Hold Infinity in the palm of your hand
And Eternity in an hour

William Blake

ÍNDICE GENERAL

APÉNDICE	7
Abreviaturas	7
Índice de tablas.....	8
Manejo de datos para disolución intrínseca y ejemplos hipotéticos	13
Manejo de datos para disolución intrínseca y ejemplos hipotéticos	18
1.RESUMEN	26
2. ANTECEDENTES	28
2.1. Algunas Perspectivas en la Enseñanza Experimental de la Química	28
2.2. Disolución	30
2.3. Generalidades e Importancia del proceso de disolución	32
2.4. Biodisponibilidad y Bioequivalencia.....	34
2.5. El Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.....	35
2.6. Prueba de disolución.....	37
2.7. Perfil de disolución	38
2.7.1. Comparación de perfiles de disolución.....	39
2.8. Disolución intrínseca.....	42
2.9. Genéricos.....	46
2.10. Normatividad Mexicana	49
2.11. Características generales del metronidazol	54
2.11.1. Mecanismo de acción	55
2.11.2. Farmacocinética	55
2.11.3. Efectos adversos	56
2.11.4. Propiedades fisicoquímicas	57
2.11.5. Presentaciones en el mercado y medicamentos de referencia ..	58

3. JUSTIFICACIÓN	59
5. OBJETIVOS	60
6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	61
6.1. Productos	61
6.2. Reactivos	61
6.3. Materiales	61
6.4. Equipos e instrumentos	62
6.5. Preparación del medio de disolución	62
6.6. Validación del método analítico para cuantificar metronidazol	63
6.6.1. Validación con el fármaco	63
6.6.2. Validación con el medicamento	65
6.7. Pruebas de control de calidad para metronidazol tabletas	69
6.8. Disolución intrínseca.....	72
6.9. Perfiles de disolución	76
7. RESULTADOS	78
7.1. Validación con el fármaco	78
7.2. Validación con el medicamento	80
7.3. Control farmacéutico	85
7.4. Disolución intrínseca.....	86
7.5. Perfiles de disolución	90
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	96
9. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	100
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

APÉNDICE

Abreviaturas

µg Microgramo

µL Microlitro

µm Micrómetro

C Concentración

COFEPRIS Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

CV% Coeficiente de variación

DA Diferencia Absoluta

DE Desviación Estándar

(f₂) Factor de similitud

FDA (Agencia de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos)

FEUM Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos

HPLC Cromatografía Líquida de Alta Resolución

mg Miligramo

mL Mililitro

mm Milímetro

N Normalidad

NOM Norma Oficial Mexicana

OMS Organización Mundial de la Salud

pH Potencial de hidrógeno

r Coeficiente de correlación

rpm Revoluciones por minuto

USP Farmacopea de los Estados Unidos de América

UV Ultravioleta

Índice de tablas

Tabla 1. Pruebas control de calidad FEUM onceava edición

Tabla 2. Criterios de validación NOM -177-SSA-2013

Tabla 3. Fragmento del Listado de Medicamentos de Referencia que establece la COFEPRIS y que incluye las formas farmacéuticas del metronidazol de venta en México (Fecha de actualización: 15 de agosto de 2013, Listado susceptible de modificación, vigente al año 2015)

Tabla 4. Relación de alícuotas y volúmenes para la preparación de las curvas de calibración

Tabla 5. Condiciones experimentales empleadas en la prueba de disolución

Tabla 6. Tabla de aceptación para muestras unitarias

Tabla 7. Condiciones experimentales empleadas en el estudio de disolución intrínseca

Tabla 8. Condiciones experimentales empleadas para llevar a cabo el estudio de perfiles de disolución

Tabla 9. Linealidad y precisión en solución HCl pH.1.2

Tabla 10. Estabilidad del estándar HCl pH.1.2

Tabla 11. Influencia del filtro en solución HCl pH.1.2

Tabla 12. Linealidad del método para MESSELDAZOL en solución HCl pH.1.2 Día 1

Tabla 13. Linealidad del método para MESSELDAZOL en solución HCl pH.1.2 Día 2

Tabla 14. Precisión y exactitud del método para MESSELDAZOL en solución HCl pH.1.2

Tabla 15. Linealidad del método para FLAGYL en solución HCl pH.1.2 Día 1

Tabla 16. Linealidad del método para FLAGYL en solución HCl pH.1.2 Día 2

Tabla 17. Precisión y exactitud del método para FLAGYL en solución HCl pH.1.2

Tabla 18. Selectividad del método (%DAM. referencia y M. prueba contra el Estándar)

Tabla 19. Control de calidad para Flagyl 500 mg (referencia) y Messeldazol 500 mg (prueba)

Tabla 20. mg de metronidazol disueltos a diferentes tiempos en cada vaso (1-6), disolución intrínseca

Tabla 21. mg de metronidazol disueltos a diferentes tiempos en cada vaso (7-12), disolución intrínseca

Tabla 22. mg promedio de metronidazol disueltos a diferentes tiempos, desviación estándar y coeficiente de variación en los 12 vasos a cada tiempo, disolución intrínseca

Tabla 23. % de metronidazol disuelto a diferentes tiempos en cada vaso (1-6), disolución intrínseca

Tabla 24. % de metronidazol disuelto a diferentes tiempos en cada vaso (7-12), disolución intrínseca

Tabla 25. % promedio de metronidazol disuelto, desviación estándar y coeficiente de variación de los 12 vasos a cada tiempo, disolución intrínseca

Tabla 26. Porcentaje disuelto a cada tiempo de muestreo en cada unidad de dosificación para producto de referencia FLAGYL

Tabla 27. Porcentajes disueltos a cada tiempo de muestreo en cada unidad de dosificación para producto de prueba MESSELDAZOL

Tabla 28. Porcentaje promedio de metronidazol disuelto, porcentaje disuelto máximo y mínimo y CV en producto de referencia (12 tabletas) y de prueba (12 tabletas) con respecto al tiempo

Tabla 29. Porcentajes promedio del fármaco disuelto en referencia y prueba para el cálculo de f_2

Índice de figuras

Figura 1. Secuencia de eventos que ocurren desde la administración del medicamento hasta la acción del fármaco

Figura 2. Aparato 1 USP (canastilla) Sistema cerrado de agitación continua con un vaso de 1000 mL inmerso en un baño de agua a temperatura controlada

Figura 3. Sistema de disco rotatorio (Aparato de Wood): a) aparato sin ensamblar y b) Configuración del aparato en el equipo de disolución

Figura 4. Método de disco fijo: a) aparato sin ensamblar y b) Configuración del aparato en el equipo de disolución

Figura 5. Secuencia de decisiones para asignar a determinado medicamento la prueba de intercambiabilidad que le corresponde

Figura 6. Estructura química del metronidazol

Figura 7. Estándar solución metronidazol 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en solución HCl pH 1.2, absorbancia 0.733, pico 278 nm

Figura 8. Aparato de Wood modificado, la resina epóxica adhiere la tableta al vástago y mantiene constante la superficie de la tableta

Figura 9. Medicamento de referencia Flagyl metronidazol 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en solución HCl pH 1.2, absorbancia 0.745, pico 278 nm

Figura 10. Medicamento de prueba Messeldazol metronidazol 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en solución HCl pH 1.2, absorbancia 0.744, pico 278 nm

Figura 11. Gráfica mg de metronidazol disueltos promedio contra el tiempo de disolución intrínseca

Figura 12. Gráfica de los porcentajes de metronidazol disuelto para 12 tabletas de producto de prueba contra el tiempo

Figura 13. Gráfica del porcentaje promedio de metronidazol disuelto de 12 tabletas de producto de prueba contra el tiempo

Figura 14. Gráfica de los porcentajes de metronidazol disuelto para 12 tabletas de producto de referencia contra el tiempo

Figura 15. Gráfica del porcentaje promedio de metronidazol disuelto para 12 tabletas de producto de referencia contra el tiempo

Figura 16. Gráfica en la que se compara el perfil de disolución promedio del producto de prueba contra el de referencia

Manejo de datos para disolución intrínseca y ejemplos hipotéticos

LABORATORIO DE BIOFARMACIA

SEMESTRE 2016-1

MAESTROS: _____

NOMBRE DEL ALUMNO: _____ NÚM DE EQUIPO: _____
GRUPO: _____

DATOS DE TABLETAS DE METRONIDAZOL PARA DISOLUCIÓN:

DIÁMETRO DE LA TABLETA EN cm _____

ÁREA DE LA TABLETA EN cm^2 _____

FABRICANTE: _____

LOTE: _____ FECHA DE CADUCIDAD: _____

CONDICIONES DE LA PRUEBA DE DISOLUCIÓN Y PERFIL DE DISOLUCIÓN:

APARATO: _____ TEMPERATURA: _____

MEDIO DE DISOLUCIÓN: _____ VELOCIDAD DE AGITACIÓN: _____

VOLUMEN DE MEDIO: _____

VOLUMEN DE MUESTRA: _____

FACTOR DE DILUCIÓN (AFORO/ALÍCUOTA): _____

DOSIS/TAB: _____

LONGITUD DE ONDA DE LECTURA: _____

IDENTIFICACIÓN DEL ESPECTRO: _____

TABLA 1. RESULTADOS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

X	Y
Conc. (µg/mL)	Abs
1	
5	
10	
20	
30	
40	

$r =$
Intercepto A=
Pendiente= B=
 Ecuación de la recta, $X_i = (Y_i - A) / B$
 donde:
 X_i = Concentración
 Y_i = Absorbancias
 B= Pendiente

TABLA 2. ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS

Tiempo (min)	Absorbancias (Yi)											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5												
10												
15												
20												
30												

TABLA 3. CONCENTRACIÓN DE LAS MUESTRAS

Tiempo (min)	Vaso No.											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5												
10												
15												
20												
30												

$$X_i = \text{Conc}$$

$$\mu\text{g/mL}$$

$$X_i = (Y_i - A)/B$$

Interpolar las absorbancias en el gráfico de regresión lineal de la curva de calibración o bien despejar a cada tiempo X_i de la ecuación de la recta

TABLA 4. CANTIDAD DISUELTA EN MILIGRAMOS EN EL VASO SIN REPOSICIÓN DE MEDIO (D_i)

Tiempo (min)	Vol. de Medio al 1- esimo tiempo	Cantidad (mg)											
		V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5													
10													
15													
20													
30													

$$D_i = (X_i)(F_d)(V_i)$$

D_i = Cantidad

X_i = Concentración

F_d = Factor de dilución

V_i = Volumen en el vaso

Ej. Concentración de la muestra a los 10 min.: $37 \mu\text{g/mL}$ Volumen a los 10 min. (500 mL) y $F_d = 1$

Cantidad de la muestra: $37 \mu\text{g} - 1 \text{ mL}$ $X = 18500 \mu\text{g}$ convertir a mg

$X - 500 \text{ mL}$

$1 \text{ mg} - 1000 \mu\text{g}$

$X - 18500 \mu\text{g}$ $X = 18.5 \text{ mg} \times 1$ que es el $F_d = 18.5$

TABLA 5. CANTIDAD DISUELTA EN MILIGRAMOS EN LA MUESTRA TOMADA AL i-ESIMO TIEMPO (E_i)

Tiempo (min)	Vol. de Medio al 1-esimo tiempo	E_i (mg)											
		V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5													
10													
15													
20													
30													

TABLA 7. CANTIDAD TOTAL DISUELTA DE MUESTRA EN EL VASO (mg)

Tiempo (min)	(mg)											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10												
15												
20												
30												

Suma las columnas de las Tabla 4 y Tabla 6.

$$D_i = (X_i)(F_d)(V_i) + \text{Suma } E_i$$

D_i = Cantidad

X_i = Concentración

F_d = Factor de dilución

V_i = Volumen en el vaso

Suma E_i = Cantidad de muestra tomada al i-ésimo tiempo.

Ejemplo; Cantidad disuelta en mg el vaso sin reposición de medio al i-ésimo Vaso 1, tiempo 10 min. = (18.5 mg) (Ver Tabla 4) y Cantidad disuelta en mg en la muestra tomada al i-ésimo tiempo de muestreo, Vaso 1, Tiempo 10 min = (0 mg) (Ver Tabla 6), Por lo tanto: 18.5 mg + 0 mg = 18.5 mg

Otro ejemplo hipotético;

Cantidad disuelta en mg el vaso sin reposición de medio al i-ésimo Vaso 1, tiempo 15 min. = (36.2 mg) (Ver Tabla 4) y Cantidad disuelta en mg en la muestra tomada al i-ésimo tiempo de muestreo, Vaso 1, Tiempo 15 min = (0.011 mg) (Ver Tabla 6), Por lo tanto: 36.2 mg + 0.011mg = 36.211 mg

Con los datos de cantidad disuelta contra tiempo calcular la pendiente y con el valor de la pendiente dividida entre el área calcular la constante de disolución intrínseca

Manejo de datos para perfiles de disolución y ejemplos hipotéticos

LABORATORIO DE BIOFARMACIA

SEMESTRE 2016-1

MAESTROS: _____

NOMBRE DEL ALUMNO: _____ NÚM DE EQUIPO: _____
GRUPO: _____

DATOS DEL MEDICAMENTO:

NOMBRE GENÉRICO: _____ NOMBRE

COMERCIAL: _____

FABRICANTE: _____

LOTE: _____ FECHA DE

CADUCIDAD: _____

NÚM. DE REGISTRO: _____

CONDICIONES DE LA PRUEBA DE DISOLUCIÓN Y PERFIL DE DISOLUCIÓN:

APARATO: _____ TEMPERATURA: _____

MEDIO DE DISOLUCIÓN: _____ VELOCIDAD DE

AGITACIÓN: _____

VOLUMEN DE MEDIO: _____

VOLUMEN DE MUESTRA: _____

FACTOR DE DILUCIÓN (AFORO/ALÍCUOTA): _____

DOSIS/TAB: _____

LONGITUD DE ONDA DE LECTURA: _____

IDENTIFICACIÓN DEL ESPECTRO: _____

TABLA 1. RESULTADOS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

X	Y
Conc. (µg/mL)	Abs
1	
5	
10	
20	
30	
40	

r=
Intercepto A=
Pendiente= B=
 Ecuación de la recta, $X_i = (Y_i - A)B$
 donde:
 X_i = Concentración
 Y_i = Absorbancias
 B= Pendiente

TABLA 2. ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS

Tiempo (min)	Absorbancias (Yi)											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5												
10												
15												
20												
30												
45												
60												

TABLA 3. CONCENTRACIÓN DE LAS MUESTRAS

Tiempo (min)	Vaso No.											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5												
10												
15												
20												
30												
45												
60												

$X_i = \text{Conc} \quad \mu\text{g/mL}$

$X_i = (Y_i - A)/B$

Interpolan las absorbancias en el gráfico de regresión lineal de la curva de calibración o bien despejar a cada tiempo X_i de la ecuación de la recta

TABLA 4. CANTIDAD DISUELTA EN MILIGRAMOS EN EL VASO SIN REPOSICIÓN DE MEDIO (D_i)

Tiempo (min)	Vol. de Medio al 1-ésimo tiempo	Cantidad (mg)											
		V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5													
10													
15													
20													
30													
45													
60													

$$D_i = (X_i)(F_d)(V_i)$$

D_i = Cantidad

X_i = Concentración

F_d = Factor de dilución

V_i = Volumen en el vaso

Ej. Concentración de la muestra a los 10 min.: 37 µg/mL Volumen a los 10 min. (500 mL) y $F_d = 1$

Cantidad de la muestra: 37 µg - 1 mL $X = 18500$ µg convertir a mg

X - 500 mL

1 mg - 1000 µg

X - 18500 µg $X = 18.5$ mg x 1 que es el $F_d = 18.5$

TABLA 5. CANTIDAD DISUELTA EN MILIGRAMOS EN LA MUESTRA TOMADA AL i-ESIMO TIEMPO (E_i)

Tiempo (min)	Vol. de Medio al 1-esimo tiempo	E _i (mg)											
		V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5													
10													
15													
20													
30													
45													
60													

Ejemplo: Concentración de la muestra a los 10 min.: 37 µg/mL Volumen de muestra 3 mL y $F_d = 1$

Cantidad de la muestra: 37 µg - 1 mL $X = 110$ µg convertir a mg

X - 3 mL

1 mg - 1000 µg

X - 111 µg $X = 0.011$ mg x 1 que es el $F_d = 0.011$ mg

TABLA 6. SUMA DE Ei (SUMA DE LA CANTIDAD DISUELTA EN MILIGRAMOS EN LA MUESTRA TOMADA AL i-ESIMO TIEMPO)

Tiempo (min)	Suma Ei (mg)											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
5												
10												
15												
20												
30												
45												
60												

Ejemplo:

Tiempo (min)	Ei (mg)
	V1
10	0.011
15	0.032
20	0.054

Suma de Ei

Tiempo (min)	ΣEi (mg)
	V1
10	0
15	$0+0.011=0.011$
20	$0+0.011+0.032=0.043$
30	$0+0.011+0.032+0.054=0.097$

TABLA 7. CANTIDAD TOTAL DISUELTA DE MUESTRA EN EL VASO (mg)

Tiempo (min)	(mg)											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10												
15												
20												
30												
45												
60												

Sumar las columnas de las Tabla 4 y Tabla 6.

$$D_i = (X_i)(F_d)(V_i) + \text{Suma } E_i$$

D_i = Cantidad

X_i = Concentración

F_d = Factor de dilución

V_i = Volumen en el vaso

Suma E_i = Cantidad de muestra tomada al i-ésimo tiempo.

Ejemplo; Cantidad disuelta en mg el vaso sin reposición de medio al i-ésimo Vaso 1, tiempo 10 min. =(18.5 mg) (Ver Tabla 4) y Cantidad disuelta en mg en la muestra tomada al i-ésimo tiempo de muestreo, Vaso 1, Tiempo 10 min = (0 mg) (Ver Tabla 6), Por lo tanto: 18.5 mg + 0 mg = 18.5 mg

Otro ejemplo hipotético;

Cantidad disuelta en mg el vaso sin reposición de medio al i-ésimo Vaso 1, tiempo 15 min. =(36.2 mg) (Ver Tabla 4) y Cantidad disuelta en mg en la muestra tomada al i-ésimo tiempo de muestreo, Vaso 1, Tiempo 15 min = (0.011 mg) (Ver Tabla 6), Por lo tanto: 36.2 mg + 0.011mg = 36.211 mg

TABLA 7. % DISUELTO DEL PRODUCTO DE REFERENCIA

Tiempo (min)	% Disuelto												Promedio X	D.E	X+DE	X- DE	%CV
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12					
10																	
15																	
20																	
30																	
45																	

NOTA: CONSIDERAR EL 100 % LA CANTIDAD QUE INDICA EN EL MARBETE

Suponiendo que en vaso 1 a los 5 minutos hay 18.5 mg.

500 mg-100%

18.5 mg- X X= 3.7%

EJEMPLO HIPOTÉTICO DE CÁLCULO DE PERFIL DE DISOLUCIÓN

n	Tiempo (min)	%Disuelto promedio Referencia (Rt)	%Disuelto promedio Prueba (Pt)	(Rt-Pt)	(Rt-Pt) ²
1	5	18.50	14.32	4.18	17.47
2	10	36.53	24.20	12.33	152.01
3	15	62.66	52.30	10.36	107.35
4	20	85.00	81.40	3.60	12.96
5	30	98.50	94.20	4.30	18.49
6	45	100.00	98.60	1.40	1.96
				Suma	310.24

Rt= % Dis. Prom en el tiempo t del medicamento de referencia

Pt= % Dis. Prom en el tiempo t del medicamento de prueba

n= No. De tiempos de muestreo

n=5

$F2 = 50 \text{ Log} \{ [1 + (1/5) \Sigma (310.24)^2]^{-0.5} \times 100 \} = \underline{\underline{55.00 \text{ CUMPLE CON LOS CRITERIOS DE F2}}}$

n	Tiempo (min)	%Disuelto promedio Referencia (Rt)	%Disuelto promedio Prueba (Pt)	(Rt-Pt)	(Rt-Pt) ²
1	10				
2	15				
3	20				
4	30				
5	45				

GRAFICAR PARA AMBOS PRODUCTOS: GRÁFICO DE % DISUELTO VS TIEMPO EN LOS 6 VASOS, GRÁFICO DE % DISUELTO VS TIEMPO DEL PROMEDIO DE LOS 6 VASOS Y GRÁFICO COMPARATIVO DEL % DISUELTO VS TIEMPO DEL PRODUCTO DE PRUEBA VS PRODUCTO DE REFERENCIA

1. RESUMEN

Actualmente para el laboratorio de la materia de Biofarmacia de la carrera de Química Farmacéutica Biológica de la Facultad de Química de la UNAM se utiliza un manual de prácticas que contempla la evaluación del ácido acetil salicílico. Se desea cambiar el fármaco por metronidazol para la actualización de un nuevo manual de prácticas de laboratorio.

Este estudio es una propuesta con información teórica y práctica que puede ser tomada en cuenta para su realización y sólo abarca la parte que concierne a las prácticas: Validación del método analítico para la determinación de metronidazol en perfiles de disolución, Disolución intrínseca de metronidazol por el método de superficie constante y Estudio de disolución aparente de dos productos farmacéuticos sólidos conteniendo metronidazol.

Este trabajo presenta algunas perspectivas en la Enseñanza Experimental de la Química, fundamentos teóricos y operativos de las prácticas del laboratorio mencionadas. Sugiere la metodología experimental a seguir por el personal docente y los alumnos que lleven a cabo la práctica. Muestra los resultados obtenidos experimentalmente de los estudios realizados e incluye una propuesta del manejo de datos. Todo lo anterior tiene el sentido de contribuir a la formación de recursos humanos de alta calidad en el área biofarmacéutica, promoviendo la formación, superación y actualización de alumnos y docentes en los ámbitos regulatorios de los estudios de intercambiabilidad de medicamentos.

En la parte operativa se validó un método analítico por espectrofotometría UV a 278 nm en ácido clorhídrico 0,1 N pH 1.2 para

cuantificar metronidazol en muestras provenientes de un estudio de disolución intrínseca de tabletas conteniendo 600 mg de metronidazol y de uno de perfiles de disolución de tabletas comerciales conteniendo 500 mg de metronidazol en medio de disolución de ácido clorhídrico (HCl 0.1 N, pH 1.2), el cual cumplió con los criterios de validación establecidos en la NOM-177-SSA1-2013.

El estudio de disolución intrínseca se realizó con tabletas de metronidazol tableteadas por compresión directa y con un diámetro promedio de 1.2 cm. Se simularon las condiciones del Aparato de Wood empleando resina epóxica para mantener sólo una cara de la tableta expuesta al medio de disolución, con el fin de mantener una superficie constante, ocupando un volumen de 500 mL de ácido clorhídrico (HCl 0.1 N, pH 1.2) a una temperatura de 37 °C y a una velocidad de agitación de 100 rpm, obteniendo un valor de constante de disolución intrínseca de $13.2 \text{ mg min}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ lo cual indica que este fármaco es de alta solubilidad a este pH.

La evaluación de perfiles de disolución se hizo bajo las condiciones indicadas en la FEUM (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos) onceava edición en la monografía para tabletas de metronidazol, empleando como medicamento de referencia el indicado por la COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios) y como medicamento de prueba un producto del mercado nacional. Los criterios para la comparación de perfiles mediante el cálculo de (f_2) se cumplieron de acuerdo a lo establecido en la NOM-177-SSA1-2013.

2. ANTECEDENTES

2.1. Algunas Perspectivas en la Enseñanza Experimental de la Química

El crecimiento intelectual y psicológico del educando se da cuando responde a un estímulo, es capaz de codificar la información que recibe, expresa sus ideas e interiorizar su experiencia. La educación se considera como el resultado de las experiencias pedagógicas, tanto formales como informales, a las que se ve sometido un individuo en el curso de su vida.

La enseñanza experimental busca el aprendizaje por medio de la aplicación de los conceptos teóricos lo cual permite que el alumno reflexione acerca de los hechos vividos y relacione aspectos vistos en el aula con aspectos prácticos en un determinado campo del conocimiento. Se considera que para que esto sea posible es necesario involucrar al estudiante enfrentándolo con problemas reales en el laboratorio mediante proyectos de investigación que le permitan ser un sujeto activo en el proceso enseñanza- aprendizaje. En este punto es necesario hacer notar la importancia que tiene el educador al planear las situaciones concretas de aprendizaje para estimular la reflexión, la resolución de problemas y el debate de hipótesis acerca de un diseño experimental donde participen los alumnos. En este sentido, como se puede ver, es necesaria la exploración de alternativas de instrucción experimental que sean flexibles y dinámicas.

Se ha planteado que la motivación es el primer paso para que el alumno logre un aprendizaje significativo. Al despertar la curiosidad y el interés intrínseco por la materia el alumno se activa.

“Lo contrario a la activación es seguir siempre una rutina aburrida de aprendizaje con un mismo manual de prácticas, idénticas preguntas en los exámenes previos o post-laboratorio y tareas similares de un curso a otro. Los alumnos ya conocen cuáles profesores tienden a caer en este esquema rígido de enseñanza, suelen comunicarse de una generación a otra las costumbres del educador y están poco motivados para permanecer en esas lecciones” ⁽¹⁾

Para continuar con el proceso de aprendizaje una vez que el estudiante se encuentra motivado es necesario que el profesor funja como un experimentado guía que lo ayude a evaluar causas de error, sortear dificultades y lo haga reflexionar acerca de las consecuencias de sus acciones.

En suma, se busca que la investigación como modelo didáctico en la enseñanza experimental de la química en el laboratorio propicie la resolución de problemas por medio de una construcción de conocimientos que reconozca el valor de la creatividad y la autonomía del individuo con lo cual se favorece la profesionalización del estudiante. ⁽²⁾

2.2. Disolución

Por disolución se entiende, en el caso que nos concierne, a un proceso por el cual una fase sólida (tableta o polvo) es introducida en una fase líquida. La disolución del fármaco se logra en esencia cuando cada molécula del fármaco es liberada de la fase sólida para formar parte de la fase líquida.

En 1897 Noyes y Withney realizaron los primeros experimentos de **disolución** y publicaron el artículo titulado "la rapidez de la disolución de sustancias sólidas en sus propias soluciones". En él formularon una ecuación que describe cuantitativamente la rapidez con la que se disuelve un sólido en un disolvente. Propusieron que el mecanismo de disolución es atribuido a una delgada capa de difusión que se forma alrededor de la superficie sólida y a través de la cual las moléculas difunden hacia la fase acuosa durante la disolución. La difusión se define como el proceso de transporte de masa de moléculas individuales de una sustancia causado por un movimiento molecular al azar y asociado con un gradiente de concentración.

La ecuación enuncia que la rapidez de la disolución es proporcional a la diferencia entre la concentración instantánea C , a un tiempo t , y la concentración de saturación, C_s .

$$\frac{dC}{dt} = k(C_s - C)$$

Posteriormente, Erich Brunner y Stanislaus von Tolloczko extendieron las variables que afectan a la disolución incluyendo: la superficie expuesta, rapidez de agitación, temperatura, estructura de la superficie y disposición del aparato.

$$\frac{dC}{dt} = k_1 S (C_s - C)$$

La publicación conjunta de los trabajos teóricos de Walther Nernst en 1904 trajo una ecuación que incluye el concepto de la capa de difusión y la segunda ley de Fick, ésta última hace énfasis en el cambio de la concentración con respecto al tiempo en un punto en vez de la masa que difunde a través de una unidad de área por unidad de tiempo ya que regularmente se desea examinar la razón de cambio de la concentración de la sustancia que difunde en un punto del sistema.

De esta manera se concluyó con la ecuación Nernst–Brunner, donde D es el coeficiente de difusión, h es el grosor de la capa de difusión y V es el volumen del medio de disolución. ⁽³⁾

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

2.3. Generalidades e Importancia del proceso de disolución

Para que un fármaco logre una respuesta terapéutica es necesario que llegue en forma disuelta al sitio activo, esto ocurre por medio de una serie de eventos que constituyen, en suma, un proceso complejo.⁽⁴⁾

Como se puede observar en la Figura 1, cuando una tableta u otra forma farmacéutica sólida llega al tracto gastrointestinal el fármaco comienza a pasar del sólido intacto a la disolución. La matriz sólida se desintegra en gránulos, y estos gránulos se desagregan convirtiéndose en partículas finas que se disuelven liberando el principio activo. La desintegración, desagregación, disolución y liberación del fármaco de la forma farmacéutica ocurren simultáneamente. La efectividad de una tableta para liberar el fármaco hacia la circulación sistémica depende en parte de la rapidez de desintegración de la forma de dosificación y de la desagregación de los gránulos. Sin embargo, es la disolución lo más importante por ser el paso limitante en la bioabsorción para fármacos de baja solubilidad, debido a que es el paso más lento en el proceso de liberación del fármaco.⁽⁵⁾ De esta forma se considera a la disolución como un prerequisite para la absorción de fármacos en formas farmacéuticas de administración oral. Los factores más importantes que gobiernan la rapidez y la cantidad con la que se absorbe un fármaco (biodisponibilidad) son la disolución y la absorción, dependiendo la primera de la solubilidad y la segunda de la permeabilidad intestinal.⁽⁶⁾

La solubilidad se define como la concentración de un soluto en una solución saturada a una determinada temperatura y en un disolvente determinado. Al ser una propiedad intrínseca de la materia sólo puede ser alterada por medio de una modificación química de la molécula. Por el contrario, la disolución de un compuesto depende de las propiedades físicas y químicas del soluto y del disolvente como la

temperatura, presión, pH del disolvente, tamaño de partícula, complejación, etc.⁽⁶⁾

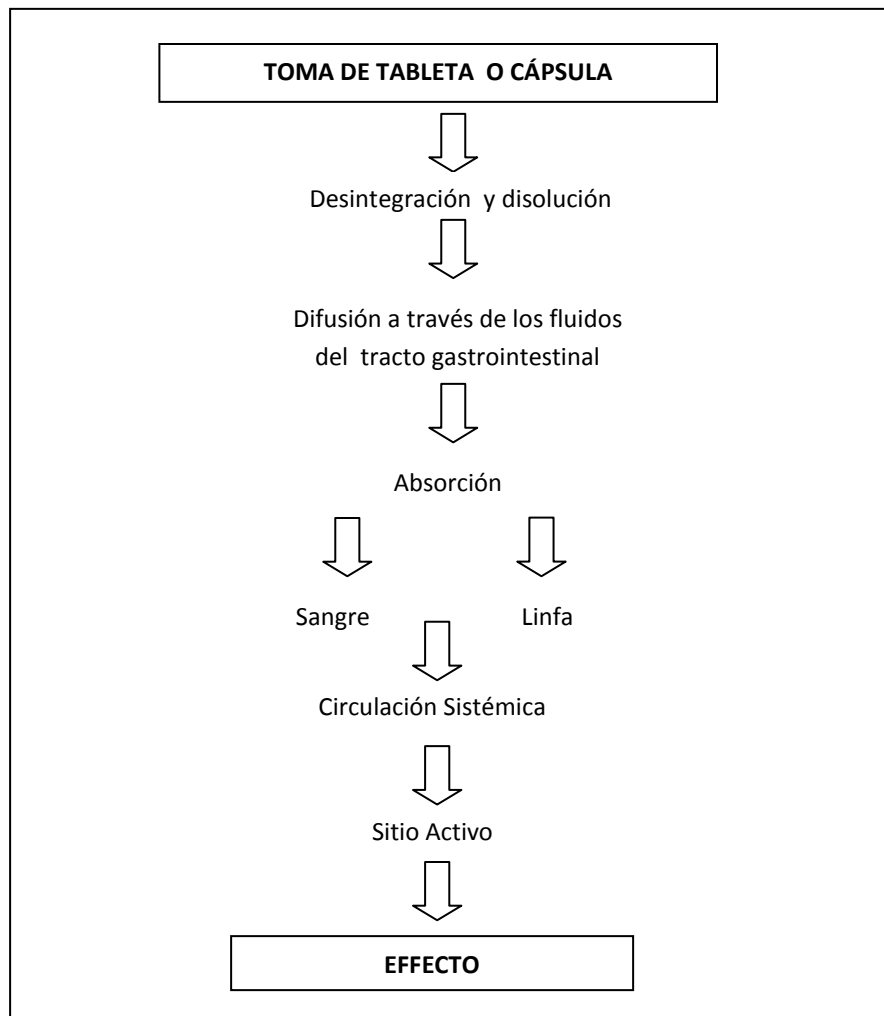


Figura 1. Secuencia de eventos que ocurren desde la administración del medicamento hasta la acción del fármaco. (Adaptado de la referencia 4. 2002 derechos reservados American College of Clinical Pharmacology, Inc.)

2.4. Biodisponibilidad y Bioequivalencia

Para poder asegurar la equivalencia terapéutica entre un medicamento de prueba genérico y un medicamento de referencia es necesario realizar estudios que demuestren biodisponibilidad y bioequivalencia.

Los estudios de biodisponibilidad se enfocan en determinar el proceso por el cual un fármaco es liberado de la forma de dosificación oral y se dirige al sitio activo. Los resultados obtenidos de estos estudios proveen un estimado de la fracción del fármaco que es absorbido, así como de la posterior distribución y eliminación del mismo. La biodisponibilidad puede ser documentada por medio de un perfil que mida la concentración del fármaco y/o el metabolito en la circulación sistémica con respecto al tiempo.

La biodisponibilidad se define como la proporción de fármaco que se absorbe a la circulación general después de la administración de un medicamento y el tiempo que requiere para hacerlo.⁽⁷⁾ Permite establecer un estimado de la fracción de la dosis administrada que se absorbe a la circulación sistémica cuando se compara con la administración de una solución, suspensión o con una forma de dosificación intravenosa. Asimismo, logra informar acerca de la permeabilidad del fármaco y del posible efecto que pueden tener transportadores o enzimas.

Por su parte, la bioequivalencia se entiende como la relación entre dos equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas, cuando al ser administrados bajo condiciones similares producen biodisponibilidades semejantes.⁽⁷⁾ De manera formal, se le conoce como la ausencia de una diferencia significativa en la velocidad y/o en el grado con que el

ingrediente activo se vuelve disponible en el sitio de acción del fármaco, cuando son administrados el producto de prueba y el de referencia a la misma dosis molar y bajo condiciones similares en un estudio que haya sido diseñado apropiadamente.⁽⁸⁾

2.5. El Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (SCB)

Es un esquema que correlaciona la disolución *in vitro* de un fármaco y la biodisponibilidad *in vivo*. Se basa en que la disolución del fármaco y la permeabilidad gastrointestinal son los parámetros que controlan la velocidad de absorción y la cantidad que se absorbe del principio activo. En este sentido, permite estimar la absorción de los fármacos con base en propiedades de disolución y de permeabilidad de importancia fisiológica. El SCB clasifica a los fármacos de la siguiente manera:

Clase 1: Alta solubilidad - Alta permeabilidad

Clase 2: Baja solubilidad - Alta permeabilidad

Clase 3: Alta solubilidad - Baja permeabilidad

Clase 4: Baja solubilidad – Baja permeabilidad

La solubilidad de un fármaco se determina disolviendo la más alta unidad de dosificación en 250 mL de buffer, ajustado a un pH entre 1.0 y 8.0. Cuando se disuelve en menos de 250 mL se considera altamente soluble. Por otro lado, los fármacos altamente permeables son, por lo general, aquellos cuyo grado de absorción es mayor del 90%, en la ausencia de inestabilidad en el tracto gastrointestinal documentada.

Para poder garantizar que la biodisponibilidad de un fármaco no se encuentra limitada por la disolución; el SCB sugiere que para fármacos de alta solubilidad y alta permeabilidad (Clase 1) al menos el 85% se encuentre disuelto en HCl 0.1N a los 15 minutos. Se considera en este caso que el producto farmacéutico se comporta como una disolución y que el paso limitante para su absorción es el vaciado gástrico, ya que se sabe que el tiempo promedio de residencia gástrica en ayuno es de 15 a 20 minutos.

En el caso de fármacos con una baja solubilidad - alta permeabilidad (Clase 2) la disolución podría ser el paso limitante para su absorción por lo que se recomienda un perfil de disolución en múltiples medios de disolución para aquellos productos que se encuentren en esta categoría.

Para los fármacos que tienen una alta solubilidad - baja permeabilidad (Clase 3) dado que el paso que controla la velocidad de absorción es la permeabilidad sólo una limitada correlación *in vitro* - *in vivo* sería posible y ésta dependería de la rapidez de disolución y del tránsito intestinal.

Debido a su baja solubilidad-permeabilidad los fármacos (Clase 4) representan problemas para que sean absorbidos.⁽⁹⁾

Este esquema es de gran importancia para poder predecir bajo qué condiciones una correlación *in vivo-in vitro* es posible, establecer metodologías *in vitro* de disolución y exentar a los productos farmacéuticos de las pruebas de bioequivalencia. Tiene como objetivo crear una herramienta regulatoria que sustituya varias pruebas de bioequivalencia por pruebas de disolución *in vitro*, con lo cual se permita reducir tiempo y costo en el proceso de desarrollo de

medicamentos, así como evitar una innecesaria exposición de humanos a estudios *in vivo*.⁽¹⁰⁾

2.6. Prueba de disolución

La absorción del fármaco proveniente de una forma de dosificación oral posterior a la administración depende de la liberación del principio activo, de la disolución o solubilización del fármaco bajo condiciones fisiológicas y de la permeabilidad a través del tracto gastrointestinal. Debido a la naturaleza crítica de los dos primeros pasos es que la disolución *in vitro* puede ser útil para la predicción del comportamiento *in vivo*. Por tal motivo, las pruebas de disolución para formas sólidas de dosificación oral como cápsulas y tabletas son de gran ayuda en la evaluación de la calidad por lote, como guía para el desarrollo de nuevas formulaciones y para asegurar la continua calidad del producto después de cambios en la formulación, proceso y sitio de manufactura o a causa del escalamiento de los procesos. Adicionalmente a las pruebas de control de calidad algunas pruebas de disolución también se usan para exentar las pruebas de bioequivalencia.⁽¹¹⁾

La prueba de velocidad de disolución aparente, también llamada **“prueba de disolución”** es un método que mide la liberación de un principio activo de la forma de dosificación que lo contiene y la disolución del mismo en el medio de prueba.⁽¹²⁾ Esta prueba de un sólo punto es adecuada para monitorear lote a lote cambios en la disolución que puedan afectar la calidad del medicamento y su comportamiento *in vivo*.

2.7. Perfil de disolución

La prueba de perfil de disolución se le define como la determinación experimental de la cantidad del fármaco disuelta a partir de la forma farmacéutica a diferentes tiempos y en condiciones experimentales controladas.⁽⁷⁾ Permite evaluar cambios más grandes que la prueba de disolución de un solo punto y es especialmente útil para exentar a los medicamentos genéricos de las pruebas de bioequivalencia estableciendo, en virtud de la similitud de los perfiles de disolución, la intercambiabilidad entre un medicamento de prueba con respecto a uno de referencia.⁽¹³⁾

El estudio de perfiles de disolución se realiza en el aparato I (Figura2) de la USP (Farmacopea de los Estados Unidos de América) a 100 rpm o aparato II a 50 rpm utilizando 900 ml de alguno de los siguientes medios de disolución; HCl 0.1 N o fluido gástrico simulado sin enzimas USP, buffer pH 4.5 y buffer pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzimas. Un mínimo de 12 unidades del producto a bioexentar deben ser evaluadas y las muestras han de tomarse con suficientes intervalos para permitir la caracterización del perfil de disolución del producto.⁽¹³⁾



Figura 2. Aparato 1 USP (canastilla) Sistema cerrado de agitación continua con un vaso de 1000 mL inmerso en un baño de agua a temperatura controlada. Una descripción detallada del sistema se encuentra en la actual versión de la USP. Adaptado de la referencia 5. 2011 derechos reservados Sinko J. Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences: physicalchemical and biopharmaceutical principles in the pharmaceutical sciences.

2.7.1. Comparación de perfiles de disolución

Se considera que dos perfiles son similares tomando en cuenta la similitud entre perfiles completos o por la similitud de cada punto de los perfiles de disolución. Esta comparación se puede realizar utilizando un método modelo independiente o uno modelo dependiente.

Moore y Flanner han propuesto un método modelo independiente usando un factor de diferencia (f_1) y un factor de similitud (f_2) para comparar los perfiles de disolución. El factor (f_1) calcula el porcentaje de

diferencia entre dos curvas a cada tiempo y es una medida del error relativo entre ellas.

$$f_1 = \{[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|] / [\sum_{t=1}^n R_t]\} \cdot 100$$

El factor de similitud (f_2) es la transformación logarítmica del recíproco de la raíz cuadrada de la suma de los errores al cuadrado y mide la similitud del porcentaje disuelto entre dos curvas que describen los perfiles de disolución del producto de prueba y de referencia:

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

Donde:

N= número de tiempos de muestreo

R_t = porcentaje disuelto promedio del medicamento de referencia al tiempo t

P_t = porcentaje disuelto promedio del medicamento de prueba al tiempo t

Para que las curvas se consideren similares el valor de (f_1) debe ser cercano a 0 y los valores de (f_2) cercanos a 100. De manera general se considera que los valores de (f_1) hasta 15 (0-15) y valores de (f_2) mayores de 50 (50-100) aseguran similitud o equivalencia entre dos curvas y por lo tanto entre el producto de prueba y de referencia.⁽¹⁴⁾

Para poder hacer uso de valores de porcentaje disuelto promedio la NOM-177- SSA1-2013 establece: "el CV% del porcentaje disuelto es menor o igual que el 20% para el primer tiempo de muestreo y menor o igual que el 10% para los tiempos subsecuentes. Si el CV% del

porcentaje disuelto es mayor al establecido, realizar la comparación utilizando un procedimiento de región de certeza multivariado independiente de modelo, un enfoque dependiente de modelo o modelo de series de tiempo”.

La FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos) considera adecuado en aquellos casos en los que el CV% dentro de un mismo lote sea mayor del 15% un procedimiento de región de certeza multivariado independiente de modelo para la comparación de perfiles de disolución. El enfoque dependiente de modelo se refiere a una variedad de modelos matemáticos que ajustan los datos a diferentes modelos de disolución (función de Weibull, probit, logistic, raíz cuadrática o linear).⁽⁹⁾

La norma también **establece**: “En el caso que tanto el medicamento de prueba como el medicamento de referencia se disuelvan 85% o más en 15 minutos o menos tiempo, en el medio de disolución, no es necesario emplear el f_2 y los productos se clasifican como de muy rápida disolución. Calcular el valor de f_2 en cada uno de los medios de disolución, comparar los valores promedio desde el primer tiempo de muestreo hasta máximo un tiempo de muestreo después de que el medicamento de referencia ha alcanzado el 85% del fármaco disuelto con un mínimo de 3 puntos, si el valor de f_2 es mayor o igual a 50, en el medio o en los 3 medios de disolución, según aplique los perfiles de disolución son **similares**”.

2.8. Disolución intrínseca

El propósito de la prueba de disolución intrínseca es determinar la rapidez de disolución de las sustancias sólidas en estado puro posterior a la compactación y bajo la condición de contar con un área superficial constante. Se realiza bajo condiciones controladas. La evaluación busca la caracterización de la disolución de la sustancia activa.

Puede verse afectada por factores relativos a las propiedades del estado sólido (tamaño de partícula, polimorfismo, hábito cristalino, etc.) o por condiciones propias de la prueba (hidrodinamia, temperatura, viscosidad, pH, fuerza iónica del medio de disolución, etc.)

La velocidad de disolución intrínseca se determina exponiendo un área constante de la sustancia compactada a un medio de disolución apropiado, mientras se mantiene una rapidez de agitación constante, temperatura, fuerza iónica y pH. Las unidades en las que se expresa son $(\text{mg} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2})$.⁽¹⁵⁾

Las farmacopeas mencionan dos tipos de aparatos para la prueba de disolución intrínseca: el sistema de disco fijo descrito en la USP y el **sistema de disco rotatorio, también conocido como "aparato de Wood"**, descrito en las farmacopeas: Europea, Británica y USP. Estos aparatos permiten trabajar con una geometría y tamaño de la superficie expuesta conocida además de situar al principio activo en un lugar de baja variabilidad hidrodinámica.

Figura 3. Sistema de disco rotatorio (Aparato de Wood): a) aparato sin ensamblar y b) Configuración del aparato en el equipo de disolución

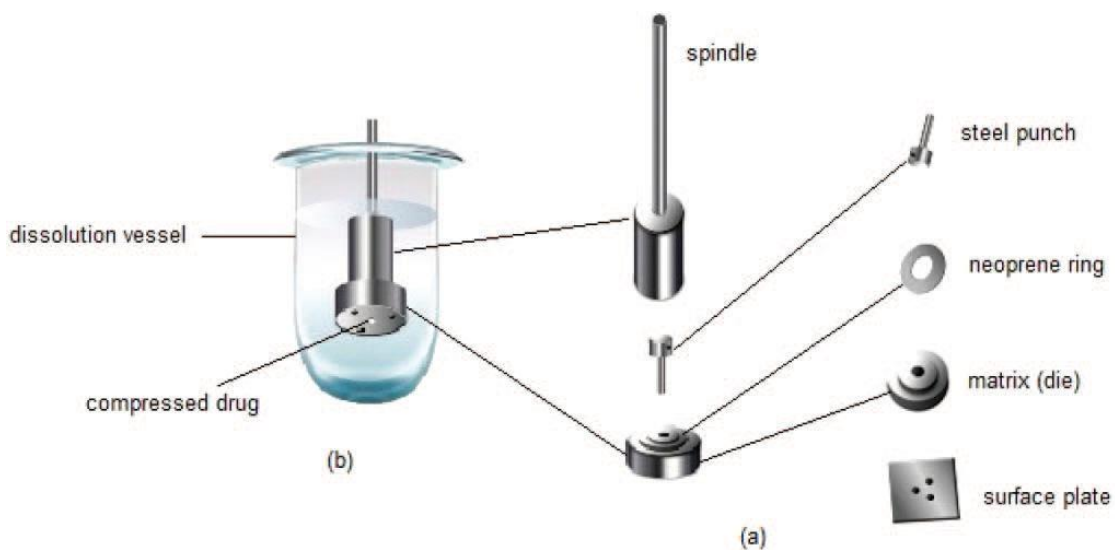
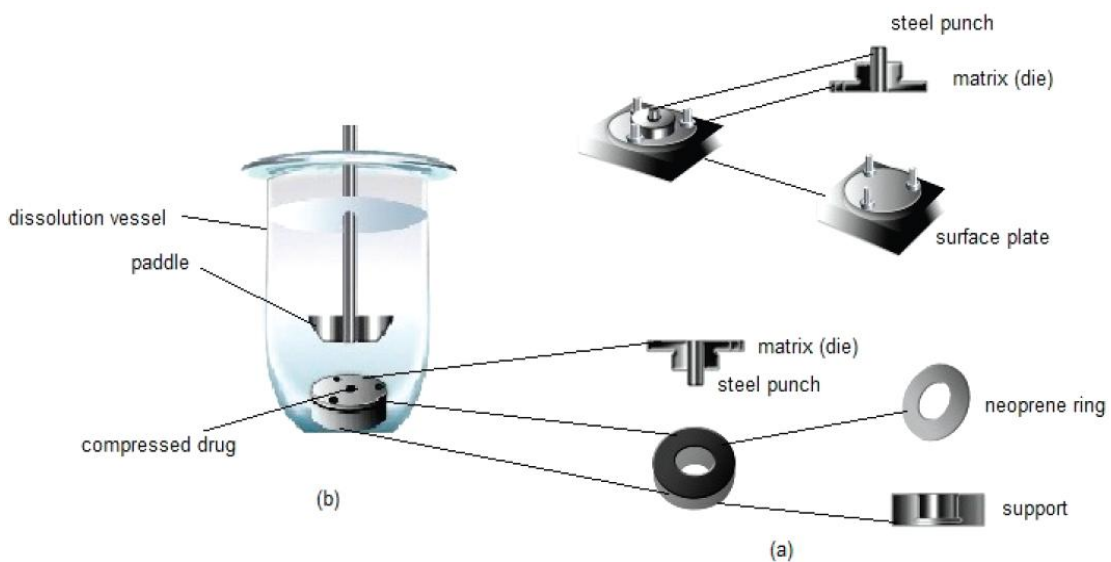


Figura 4. Método de disco fijo: a) aparato sin ensamblar y b) Configuración del aparato en el equipo de disolución



Durante la prueba la cantidad acumulada del fármaco disuelto se corrige en cada intervalo de tiempo tomando en cuenta los volúmenes tomados para el análisis. Para calcular la velocidad de disolución intrínseca se grafica la cantidad acumulada del fármaco disuelto contra el tiempo. Después de haber hecho una regresión lineal, la pendiente será la rapidez de disolución en unidades de masa por segundo. Este resultado al ser dividido entre el área superficial del fármaco comprimido será el valor de la velocidad de disolución intrínseca.⁽¹⁶⁾

La USP recomienda que la compactación del principio activo se haga por 1 minuto a 2175 psi lo cual es suficiente para la mayoría de los compuestos cristalinos orgánicos. Que la prueba se realice con una velocidad de rotación del disco de 300 rpm. Considera que una rotación típica va de 60 - 500 rpm. La rapidez de rotación se elige de tal forma que se tengan 5 puntos de muestreo durante la prueba. Para aproximarse a condiciones *in vivo* las mediciones deben hacerse a 37 °C y a un pH fisiológico.

La constante de disolución intrínseca permite determinar la rapidez de disolución que tiene una nueva molécula durante su desarrollo (etapa de preformulación). Gracias a que la prueba se puede hacer con pequeñas cantidades del principio activo: se pueden detectar posibles problemas de disolución aun cuando exista una cantidad mínima disponible del fármaco.

Entre las aplicaciones de las pruebas de disolución intrínseca se encuentran aquellas que son útiles para la caracterización de fármacos en estado sólido: determinación de parámetros termodinámicos asociados con la transición entre las fases cristalinas, grados de hidratación, evaluación de la rapidez de disolución de un fármaco en

medios con diferentes pH o con el uso de surfactantes, así como también en el estudio de la rapidez de disolución de un principio activo con respecto a su forma cristalina.⁽⁹⁾

Se ha establecido $1 \text{ mg min}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ como valor límite para correlacionar la constante de disolución intrínseca con la solubilidad. Siendo los fármacos con una constante de disolución intrínseca superior a este valor de alta solubilidad y aquellos con una inferior a 0.1 de baja solubilidad.⁽¹⁷⁾ Los fármacos con valores de constante de disolución intrínseca dentro del intervalo de 0.1 y 1 tienen una solubilidad intermedia.

2.9. Genéricos

La Salud es un derecho fundamental del ser humano. El artículo 4º de La Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos reconoce el derecho a la protección de la salud de toda la población. Juega un papel de la mayor importancia como fuente de desarrollo ya que aunada a la educación de los pueblos impulsa el crecimiento económico sustentable. La protección de la salud contempla, entre otras cosas, el libre acceso de las personas a medicamentos; eficaces, seguros y de bajo precio, que permitan el mejoramiento de la calidad de vida.⁽¹⁸⁾

El insuficiente estado actual de la seguridad social en el país, en cuanto a cobertura universal se refiere, provoca que la población más desfavorecida pague de su bolsillo los servicios de salud.⁽¹⁹⁾ De esta forma, la compra de medicamentos representa uno de los aspectos que más merma la economía de este sector de la población. A nivel mundial casi el 90% de la población paga los medicamentos con dinero que sale de su bolsillo.⁽²⁰⁾ Adicionalmente, debido al aumento de la esperanza de vida de la población en las últimas décadas y a la mayor incidencia de enfermedades crónicas que requieren regímenes de tratamiento prolongados, entre otras causas, es que existe una creciente necesidad de medicamentos. Para paliar esta situación los medicamentos genéricos han sido de gran ayuda al hacer más accesible la salud a un mayor número de personas.⁽²¹⁾ El reglamento de insumos para la salud define al medicamento genérico de esta forma:

“Los medicamentos genéricos intercambiables son aquellas especialidades farmacéuticas, que con el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que

utiliza la misma vía de administración y con especificaciones farmacológicas iguales o comparables, que después de haber cumplido con las pruebas a las que se refiere el reglamento, ha comprobado que sus perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otros parámetros, según sea el caso, son equivalentes a los del medicamento innovador o producto de referencia y que se encuentra registrado en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables y se identifica con su denominación genérica.”⁽²²⁾

Los medicamentos innovadores se venden a precios elevados debido a la voluntad de las compañías farmacéuticas por recuperar la inversión hecha en investigación y desarrollo de nuevos medicamentos. Son ellas las que ostentan la patente de la molécula (principio activo) o del procedimiento utilizado para su producción.⁽²³⁾ Este documento expedido por el estado, en donde se concede a alguien el derecho exclusivo a poner en práctica determinada invención, otorga en este caso un monopolio legal temporal.⁽²³⁾ En Estados Unidos la protección de las patentes dura en promedio 17 años, en la Unión Europea está limitada a 10 años después de la aprobación final y en México las patentes duran 20 años.⁽²⁰⁾ Con esta protección se busca incentivar, por medio del beneficio económico que les reporta a los propietarios de estas creaciones intelectuales, el flujo de las investigaciones presentes y la innovación futura. Sin embargo, a pesar del beneficio que tiene este régimen para los países desarrollados, debido a una infraestructura científica y tecnológica adecuada y a un sector privado capaz de innovar, en países en vías de desarrollo limita la asequibilidad de estos productos sanitarios.⁽²⁴⁾ Se sabe que un tercio de la población mundial carece de acceso a los medicamentos más imprescindibles.⁽²⁵⁾

Una vez vencida la patente, otras compañías pueden fabricar y comercializar el medicamento genérico bajo su propio nombre específico o marca. Debido a que ya fueron realizados los estudios preclínicos y clínicos del fármaco en cuestión, no es necesario que el fabricante del medicamento genérico los repita. No así, los estudios de bioequivalencia que deben ser realizados para poder determinar la intercambiabilidad con el medicamento innovador.

En E.U.A., gracias a la Ley Hatch-Waxman de 1984, se logró abatir obstáculos reglamentarios con la finalidad de poder comercializar medicamentos genéricos, siempre que garantizaran la equivalencia terapéutica y la intercambiabilidad clínica. Hacia 1999 se establecieron los criterios y requisitos para demostrar la intercambiabilidad de los medicamentos genéricos en México y no fue sino hasta el año 2010 que se inició la comercialización de medicamentos genéricos regulados por la autoridad sanitaria.⁽²⁶⁾

En México actualmente en el mercado de genéricos existen 32 sustancias activas que corresponden a 357 nuevos registros que cubren los padecimientos que ocasionan 71 por ciento de la mortalidad en la población mexicana.

En el marco del Foro de Calidad 3915 "Hacia una política Integral de Medicamentos" el Titular de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) Mikel Arriola Peñalosa afirmó:

"La reducción de costo sin demérito de la calidad de medicamentos ha sido clave en el ascenso de México en dos lugares entre los países de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) en el gasto de medicinas, pasando de 28.3 por ciento a 27.1 por ciento"

Manifestó que los ahorros acumulados por la liberación de genéricos en el país suman ya 21 mil 148 millones de pesos y el gasto de bolsillo en medicamentos de las familias se ha reducido 39 por ciento en general y hasta 50 por ciento entre quienes menos ingresos tienen.⁽²⁷⁾

3.10. Normatividad Mexicana

La NOM-177-SSA1-2013 establece que un medicamento genérico es aquella especialidad farmacéutica que cumple con las pruebas de intercambiabilidad que señala el Consejo de Salubridad General. Esta norma incluye dentro de sus objetivos establecer los criterios y especificaciones que deben observarse en la realización de las pruebas para demostrar la intercambiabilidad de los medicamentos genéricos, así como los requisitos a los que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o instituciones hospitalarias que lleven a cabo dichas pruebas.

De acuerdo al Reglamento de Insumos para la Salud, el Consejo de Salubridad General debe elaborar y publicar el Catálogo de Medicamentos Genéricos. Este catálogo está integrado por los medicamentos que reúnen los requisitos que establece el reglamento y que cumplen con las pruebas que determinan el Consejo y la Secretaría de Salud.

Para acreditar la intercambiabilidad de los medicamentos se determina que las pruebas a las que han de sujetarse son las de perfil de disolución o bioequivalencia, según sea el caso. Para determinar si un medicamento deberá ser sometido a bioequivalencia se siguen los siguientes criterios: forma farmacéutica, margen terapéutico, grupo terapéutico y características farmacocinéticas y fisicoquímicas. Aquellas formas farmacéuticas sólidas de dosificación oral que no se vean

afectadas por los requerimientos mencionados deberán someterse a pruebas de perfil de disolución. En caso de que los perfiles de disolución no sean satisfactorios siempre se podrá realizar la prueba de bioequivalencia a la que se considera como el estándar de oro. En la Figura 5 se esquematiza un algoritmo para la toma de decisiones que asigna la prueba que aplica para cada medicamento en virtud de las consideraciones y criterios mencionados.

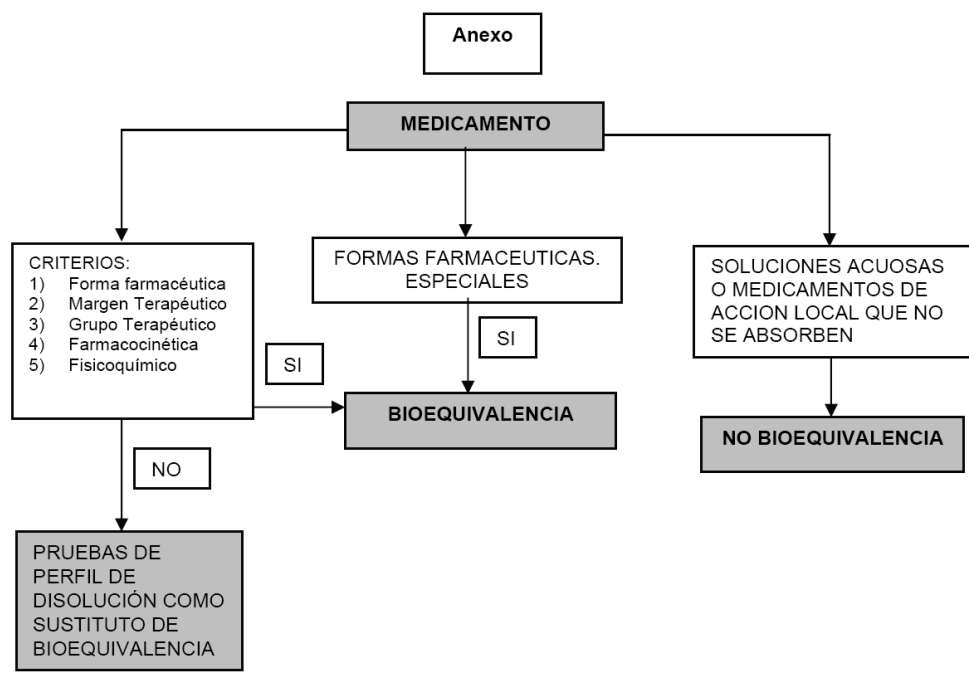


Figura 5. Secuencia de decisiones para asignar a determinado medicamento la prueba de intercambiabilidad que le corresponde.

En el artículo segundo del Acuerdo por el que se adiciona y modifica la relación de especialidades farmacéuticas susceptibles de incorporarse al Catálogo de Medicamentos Genéricos (Diario Oficial de la Federación 2008) donde se encuentra la relación de los medicamentos genéricos

que podrán incorporarse al Catálogo de Medicamentos Genéricos se identifican con letras las pruebas de intercambiabilidad:

Prueba tipo A. Se encuentra indicada para aquellos medicamentos que no requieren someterse a pruebas de disolución o bioequivalencia: soluciones acuosas de uso parenteral, soluciones orales sin excipientes que modifiquen su farmacocinética, gases, medicamentos tópicos no sistémicos, medicamentos para inhalación en solución acuosa, etc.

Prueba tipo B. Es aplicable a medicamentos sólidos orales de liberación inmediata, exceptuando aquellos que les aplique la prueba C. Se someterán a pruebas de perfil de disolución, por lo que exentarán la prueba de bioequivalencia. Estos fármacos deberán probar experimentalmente, o mediante equivalencia publicada, que tienen una alta solubilidad. Los perfiles de disolución deben llevarse a cabo en tres diferentes pH (1, 4.5 y 6.8). En caso de no ser satisfactoria la prueba siempre puede recurrirse a la prueba de bioequivalencia.

Prueba tipo C. La prueba de bioequivalencia se realiza en formas farmacéuticas de liberación inmediata o modificada con una o más de estas características: por su margen terapéutico estrecho, aquellos en los que la relación entre su concentración terapéutica y concentración tóxica sea muy cercana o cuando presenten efectos tóxicos a concentraciones terapéuticas; por su grupo terapéutico para el tratamiento de padecimientos graves donde se necesite mantener concentraciones plasmáticas estables: antibióticos, antineoplásicos, inmunosupresores, viroestáticos, cardiotónicos, antiepilépticos, hipoglucemiantes, etc.; por su farmacocinética: baja absorción, farmacocinética no lineal, metabolismo de primer paso mayor al 70%, etc. y por su fisicoquímica: baja solubilidad, polimorfismo o altamente inestables.

Al metronidazol tabletas se le ha asignado la prueba C por lo que debe ser sometido a prueba de Bioequivalencia para estudios de intercambiabilidad de acuerdo a esta clasificación. ⁽²⁸⁾ Sin embargo, como este trabajo tiene como uno de sus objetivos actualizar una parte de las prácticas del laboratorio de Biofarmacia, y no realizar un estudio de intercambiabilidad es que esta consideración puede omitirse.

Las pruebas de identidad, pureza y disolución que el metronidazol tabletas debe cumplir se encuentran en la monografía respectiva de la FEUM (ver Tabla 1). A su vez, la NOM 177-SSA-2013 establece los parámetros para la validación del método analítico para cuantificar el fármaco disuelto, con el fármaco (sistema) y con el medicamento (método) (ver Tabla 2).

Tabla 1. Pruebas control de calidad FEUM onceava edición

Prueba	Técnica	Criterio
Valoración (Cantidad indicada en el marbete)		Contiene no menos del 90.0 por ciento y no más 110.0 por ciento de la cantidad de $C_6H_9N_3O_3$, indicada en el marbete.
Uniformidad de dosis (Variación de masa y uniformidad de contenido)		Cumple si el valor de aceptación de las primeras 10 unidades de dosificación es menor o igual a $L1$, $L1=15$. (Ver especificaciones FEUM)

Ensayos de identidad	Espectrofotometría infrarroja (MGA 0351)	El espectro IR de la muestra exhibe máximos a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de S. ref. de metronidazol.
	Espectrofotometría U.V. (MGA 0361)	El espectro UV de la preparación de la muestra, corresponde al obtenido con la preparación de referencia, obtenidas según se indica en la Disolución .
	CLAR (MGA 0241)	El tiempo de retención del pico principal obtenido en el cromatograma con la preparación de la muestra, corresponde al tiempo de retención obtenido con la preparación de referencia.
Disolución	Disolución (MGA 0291) Aparato 1 (Canastilla)	Q=85% en 60 min Realizar la prueba con seis muestras (S1) y ninguno de los resultados deberá de ser menor que Q (cantidad de ingrediente activo disuelto) + 5 por ciento.

Tabla 2. Criterios de validación NOM -177-SSA-2013

Prueba	Validación con el fármaco (Criterio)	Validación con el medicamento (Criterio)
Linealidad	R > 0.99 y ERDR < 2%	R > 0.99 y ERDR < 3%
Precisión	CV% factor respuesta < 2%	CV% factor respuesta < 2%
Exactitud	No es requerido	Diferencia absoluta < 3%
Estabilidad	Diferencia absoluta < 3%	No es requerida
Influencia del filtro	Diferencia absoluta < 2%	No es requerida
Selectividad	No es requerida	Igual $\lambda_{\text{máx}}$ (278 nm) CV% < 3%

2.11. Características generales del metronidazol

Ha sido clasificado como un antiamebiano, anti giardiásico y antibacteriano. Es usado en combinación con otros antibióticos (claritromicina, amoxicilina) y con inhibidores de la bomba de protones (omeprazol) o con compuestos de bismuto para el tratamiento de la úlcera péptica causada por *Helicobacter pylori*.⁽²⁹⁾

Está indicado para el tratamiento de tricomoniasis, vaginitis y uretritis causadas por *Gardnerella vaginalis*, giardiasis, amebiasis e infecciones por bacterias anaeróbicas de los géneros: *Bacteroides*, *Clostridium* y *Fusobacteria*, causantes de infecciones: intraabdominales, de la piel asociadas a tejido, ginecológicas, de huesos y articulaciones, del sistema nervioso central, del tracto respiratorio inferior, endocarditis y septicemias bacterianas.⁽³⁰⁾

El régimen de dosificación puede variar desde 250 mg tres veces al día por siete días hasta 750 mg tres veces al día por diez días. También

se han indicado dosis de 2 g diarios. Las dosis más altas pueden llegar hasta los 2.5 g. ⁽³¹⁾

De manera general, se considera que debido a su actividad contra un buen número de patógenos, propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas favorables así como a sus efectos adversos menores: el metronidazol es un medicamento con una buena relación costo- efectividad. ⁽³²⁾

2.11.1. Mecanismo de acción

Se ha propuesto como mecanismo de acción la entrada a la célula como un profármaco por difusión pasiva para posteriormente ser activado, ya sea en el citoplasma de la bacteria o en organelos específicos de los protozoarios. Una vez dentro, el metronidazol es convertido en un radical libre por medio de la reducción intracelular, por lo que se le transfiere un electrón al grupo nitro del fármaco. De esta manera, la molécula se vuelve citotóxica e interactúa con la molécula de DNA.

Aunque el mecanismo no ha sido del todo elucidado, se sabe que la inhibición de la síntesis de DNA y el daño por oxidación causan rupturas tanto en la hebra individual como en la doble lo cual conduce a la degradación del DNA y por último a la muerte de la célula. ⁽⁴²⁾

2.11.2. Farmacocinética

La literatura reporta que el metronidazol se absorbe rápidamente con una biodisponibilidad mayor del 90% acercándose al 100%. De la misma forma, los estudios farmacocinéticos reportan una biodisponibilidad alta.

Dosis orales de 250, 500, 750 y 2000 mg produjeron concentraciones plasmáticas (C_{max}) de 6, 12, 20 y 40 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, con un (t_{max}) de entre 0.25 y 4h. Se considera que la farmacocinética es lineal hasta una dosis de 2000 mg. La administración con alimentos podría retrasar, pero no reducir la absorción de este fármaco. En cuanto a su permeabilidad, se ha reportado que en comparación con otros fármacos (p. ej. Cefalexina, marbofloxacina y fluconazol) muestra una alta permeabilidad, siendo la permeabilidad efectiva (P_{eff}) cercana a 9×10^{-5} cm/s. Se considera que esto se debe a un efecto citotóxico directo sobre las células epiteliales de la mucosa y a varios transportadores. ⁽³³⁾

El metronidazol es ampliamente distribuido apareciendo en la mayoría de los tejidos y fluidos del cuerpo. Menos del 20% se une a proteínas plasmáticas. Tiene un volumen de distribución que va de 0.51 a 1.1 L/kg. Es metabolizado en el hígado por oxidación y glucoronidación. La principal vía de eliminación del metronidazol y sus metabolitos es la orina, al eliminarse entre el 60 y 80% de la dosis administrada. Mientras que la excreción fecal sólo contribuye a la eliminación del 6 al 15 % de la dosis. La vida media de eliminación del compuesto original es de 6-14 h con un valor promedio de 8.5 h y de 9.7 h para el metabolito hidroxilado. ⁽³⁴⁾

2.11.3. Efectos adversos

Se considera que es bien tolerado además de tener una amplia ventana terapéutica. Los efectos adversos que provoca suelen ser leves y moderados siendo los más comunes aquellos que involucran al tracto gastrointestinal como náusea, diarrea, vómito, dolor epigástrico, constipación y dispepsia, menos frecuentes son vómito y sabor metálico desagradable en la boca. Ocasionalmente produce disuria, cistitis,

xerostomía, resequedad en vulva y vagina, y ardor vaginal. Raramente se presentan efectos adversos serios como ataxia, encefalopatía, ataques convulsivos y neuropatía periférica que requieran discontinuar el tratamiento. ⁽³⁵⁾

2.11.4. Propiedades fisicoquímicas

El metronidazol (2-metil-5-nitroimidazol-1-etanol) (ver Figura 6), tiene un peso molecular de 171.15. Forma cristales que van del blanco al amarillo y también se presenta en polvo cristalino. Es medianamente soluble en agua y en alcohol, siendo muy poco soluble en éter y en cloroformo. Su pKa es de 2.6 y el pH de una solución saturada es de 5.8. ⁽³²⁾ La solubilidad reportada del metronidazol en agua es de 10 mg/mL a 20 °C y de 10.5 mg/mL a 25°C. También se ha reportado una solubilidad de 64.8 mg/mL a temperatura ambiente y a un pH de 1.2 disminuyendo aproximadamente a 10 mg/mL a valores de pH entre 2.5 y 8.0. ⁽³⁶⁾

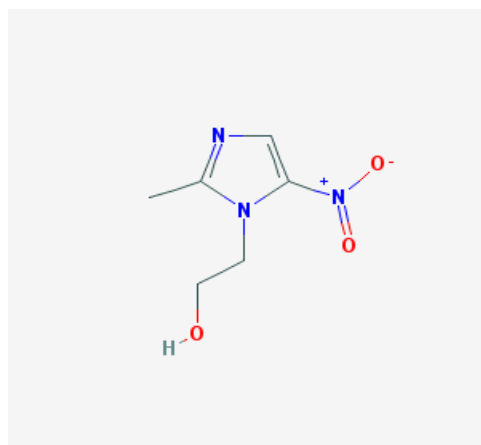


Figura 6. Estructura química del metronidazol

2.11.5. Presentaciones en el mercado y medicamentos de referencia

El metronidazol se encuentra en el mercado mexicano en diferentes presentaciones comerciales como lo son: cremas, óvulos o tabletas vaginales, soluciones inyectables, suspensiones orales y tabletas orales. En la Tabla 3 se muestran los medicamentos de referencia que establece la COFEPRIS para cada presentación.

Tabla 3. Fragmento del Listado de Medicamentos de Referencia que establece la COFEPRIS y que incluye las formas farmacéuticas del metronidazol de venta en México (Fecha de actualización: 15 de agosto de 2013, Listado susceptible de modificación, vigente al año 2015) ⁽³⁷⁾

Denominación genérica	Forma Farmacéutica (consideración de uso)	Concentración	Denominación Distintiva	Titular
Metronidazol	Solución (inyectable)	500mg/100mL	Flagyl	Sanofi-Aventis de México, S. A. de C. V.
Metronidazol	Tableta	250 Y 500mg	Flagyl	Sanofi-Aventis de México, S. A. de C. V.
Metronidazol	Suspensión (oral)	125 mg/5 mL ó 250mg/5 mL	Flagyl	Sanofi-Aventis de México, S. A. de C. V.
Metronidazol	Cápsula	400mg	Vertisal	Laboratorios Silanes, S. A. de C. V. P.
Metronidazol	Óvulos	500mg	Flagyl V	Sanofi-Aventis de México, S. A. de C. V.

3. JUSTIFICACIÓN

La actualización de las prácticas de Biofarmacia que se presenta es un primer paso para consolidar el nuevo manual que considera como fármaco al metronidazol y a largo plazo una variedad de manuales con diversos fármacos que tengan prácticas con diferencias metodológicas entre sí, lo cual además de despertar el interés del alumno por la materia le brinde una nueva experiencia metodológica al trabajar con un fármaco distinto al que se usaba anteriormente.

Se desea que el alumno trabaje con una metodología validada y a su vez aprenda a validarla conforme a la normatividad vigente obteniendo resultados parecidos a los que se tienen en este trabajo.

Se persigue que el alumno al validar este método analítico y realizar los estudios de disolución aparente e intrínseca se enfrente a un problema de carácter práctico lo más parecido a lo que sería uno en su actividad profesional y que complementado con las clases teóricas de la materia, le permita obtener competencias y habilidades como pensamiento crítico, destreza experimental y capacidad de trabajo en equipo, las cuales le ayudaran en su formación como QFB.

5. OBJETIVOS

Objetivo General:

Actualizar la enseñanza educativa del laboratorio de Biofarmacia proponiendo la sección de un nuevo manual que incluya las prácticas: Disolución intrínseca de metronidazol por el método de superficie constante, Validación del método analítico para la determinación de metronidazol en perfiles de disolución y Estudio de disolución aparente de dos productos farmacéuticos sólidos conteniendo metronidazol.

Objetivos particulares:

Proponer una metodología experimental a detalle y obtener resultados preliminares de las prácticas del manual de laboratorio de Biofarmacia con apego a la regulación sanitaria vigente.

Propiciar que el alumno al validar el método y realizar las prácticas de disolución intrínseca y aparente tome conciencia de la relación que tienen sus clases de teoría y problemas con el laboratorio además de la importancia que tienen este tipo de pruebas en la industria farmacéutica.

6.0 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

6.1. Productos

Flagyl ®. SANOFI Medley. Tabletas. Metronidazol 500 mg. Producto innovador. Lote B4A12. Caducidad: Diciembre 2016. REG No. 55754 SSA IV.

Messeldazol. BIOMEF S.A de C.V. Tabletas. Metronidazol 500 mg. Producto prueba. Lote SD1442. Caducidad: Abril 2016. REG No. 85541 SSA IV.

6.2. Reactivos

- Ácido clorhídrico, J.T. Baker.
- Tabletas planas de metronidazol de 1.2 cm de diámetro; peso de 592 mg; presión de compactación 1000 psi y desintegración mayor de 90 min fabricadas por compresión directa en una prensa hidráulica marca Carver en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica Facultad de Química UNAM.
- Patrón de referencia de metronidazol Química Balsa lote: MTZ 505078

6.3. Materiales

- Matraces volumétricos de 10, 25, 50, 100, 500, 2000 mL
- Vaso de precipitados de 50, 200 mL y 4L
- Probeta de vidrio de 10 mL
- Probeta de plástico de 1000 ml
- Tubos de ensayo de 13 X 100 mm
- Espátula
- Navecilla de pesar

- Muestreadores de plástico
- Jeringas de plástico de 10 mL
- Filtros de teflón de 35 μm
- Puntas para pipetas automáticas de 1000-5000 μL
- Pipetas automáticas de 1000 y 5000 μL
- Pipetas Pasteur
- Resina epóxica transparente químicamente inerte marca Resistol
- Celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico

6.4. Equipos e instrumentos

- Balanza analítica Sartorius A210P
- Sonificador Branson 3510
- Termómetro calibrado
- Cronómetro
- Espectrofotómetro Evolution 60 ThermoScientific
- Disolutor TDT-08L Pharma Alliance Group

6.5. Preparación del medio de disolución

Solución de HCl 0.1N pH 1.2

Medir 8.5 mL de HCl concentrado y disolverlos en 400 mL de agua destilada contenidos en un matraz volumétrico de 1000mL, mezclar y llevar a volumen con agua destilada.

6.6. Validación del método analítico para cuantificar metronidazol

6.6.1. Validación con el fármaco

Linealidad

Preparar tres curvas de calibración con el estándar de metronidazol en el medio de disolución y determinar la absorbancia a 278 nm.

Preparación de la curva de calibración

- 1) Preparación de la disolución estándar. Pesar el equivalente a 25mg de metronidazol y transvasar a un matraz volumétrico de 50 mL, disolver con el medio de disolución correspondiente y llevar al aforo. Esta disolución tiene una concentración de 500 µg/mL. Hacer una pesada independiente para cada una de las tres curvas a realizar.
- 2) A partir de la disolución estándar anterior, preparar la curva de calibración por triplicado de acuerdo a la Tabla 3.

Tabla 4. Relación de alícuotas y volúmenes para la preparación de la curvas de calibración

Solución	Alícuota (µL)	Volumen aforo(mL)	[µg/mL]
1	200	100	1
2	250	25	5
3	200	10	10
4	400	10	20
5	600	10	30
6	800	10	40

3) Con el promedio de las absorbancias obtenidas de dos de las curvas de calibración, se calcula por mínimos cuadrados el coeficiente de correlación (r), pendiente (m) e intercepto (b), así como el error relativo debido a la regresión (ERDR).

Detalle de cálculo

$$\% ERDR = S_{y/x,r} = \frac{\left[\frac{\sum y^2 - (m * \sum xy) - (b * \sum y)}{N - 2} \right]^{1/2}}{y_{promedio}} * 100$$

Criterio de aceptación

La linealidad del sistema se demuestra si el coeficiente de correlación (r) es mayor o igual a 0.99 y el ERDR es menor o igual al 2 %.

Precisión del Sistema

Se evalúa a partir de los datos de absorbancia de las curvas de calibración, obteniendo el factor de respuesta y el coeficiente de variación.

Detalle de cálculo: $Factor\ de\ respuesta = \frac{Respuesta\ muestra}{Concentración\ muestra}$

$$Coeficiente\ de\ variación = \frac{D.E.}{X}$$

Criterio de aceptación

El coeficiente de variación global entre tres curvas no debe ser mayor del 2%, para considerar que el método es preciso.

Estabilidad del estándar

Dejar a temperatura ambiente durante 4h y 8 h la solución estándar de 40 µg/mL. Leer en el espectrofotómetro al finalizar cada tiempo.

Criterio de aceptación

La diferencia absoluta del promedio del porcentaje cuantificado en el análisis inicial y final debe ser menor o igual al 3%.

Influencia del Filtro

Leer en el espectrofotómetro la solución de 40 µg /mL y las seis alícuotas filtradas.

Criterio de aceptación

La diferencia absoluta entre el promedio de los datos de por lo menos seis muestras de solución filtrada y sin filtrar debe ser igual o menor al 2%.

6.6.2 Validación con el medicamento

Linealidad

Para comprobar la tendencia lineal del método prepara una curva de calibración por triplicado, con producto de referencia y de prueba, respectivamente, en el medio de disolución. Determinar los valores de absorbancia a 278 nm.

Preparación de las curvas de calibración:

- 1) Pesar individualmente 20 tabletas del producto (prueba o referencia) y obtener el peso promedio. Pulverizar hasta polvo fino.

- 2) Pesar el polvo de tabletas equivalente a 25 mg de metronidazol, colocarlo en un matraz volumétrico de 50 mL, disolver con medio de disolución HCl 0.1N y llevar a volumen con el mismo medio. Concentración aproximada: 500 µg/mL. Hacer una pesada independiente para cada una de las tres curvas a realizar.
- 3) Filtrar la solución y a partir de ésta preparar la curva de calibración de acuerdo a la tabla siguiente:

Tabla 4. Relación de alícuotas y volúmenes para la preparación de la curva de calibración

Solución	Alícuota (mL)	Volumen aforo(mL)	[µg/mL]
1	200	100	1
2	250	25	5
3	200	10	10
4	400	10	20
5	600	10	30
6	800	10	40

Con los datos de absorbancia obtenidos de las curvas de calibración calcular por mínimos cuadrados la pendiente (m), el intercepto (b) y el coeficiente de correlación (r), además del ERDR.

Criterio de aceptación

La linealidad del método se demuestra si el coeficiente de correlación es mayor o igual a 0.99 y Error relativo debido a la regresión no mayor del 3%.

Exactitud del método

Calcular el promedio del porcentaje de la recuperación de los datos de linealidad. Para cada una de las concentraciones de las tres curvas empleadas para la validación del método, determinar el valor promedio del porcentaje de variación con respecto a la cantidad nominal.

Detalle del cálculo

Concentración calculada

De cada curva obtener la ecuación de la recta $y = mx + b$. Al despejar x y sustituir los valores de y (absorbancia), b (ordenada al origen) y m (pendiente) se obtiene:

$$x = (y - b) / m = \text{Concentración calculada } (\mu\text{g/mL})$$

$$\% \text{ diferencia absoluta} = \left| \frac{\text{Concentración nominal} - \text{Concentración calculada} * 100}{\text{Concentración nominal}} \right|$$

Criterio de aceptación

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

Precisión del método

Repetibilidad del método

Con los datos de exactitud del método, calcular el coeficiente de variación del porcentaje cuantificado.

Criterio de aceptación

El coeficiente de variación del porcentaje cuantificado debe ser menor o igual al 3%.

Reproducibilidad

En caso de que participen dos o más analistas evaluar su efecto en la precisión del método. Para cada condición de interés analizar como indica el método propuesto una muestra homogénea de la disolución del producto por triplicado y calcular el porcentaje cuantificado.

Criterio de aceptación

El coeficiente de variación global, del porcentaje cuantificado, debe ser menor o igual al 3%.

Selectividad

Se debe demostrar la selectividad del método para el fármaco ante otros componentes de la muestra, cualquier interferencia no debe producir un error mayor que el aceptado en precisión y exactitud.

A partir de las soluciones de 20 $\mu\text{g/mL}$ de metronidazol de los productos de referencia y de prueba, así como del estándar de referencia de 20 $\mu\text{g/mL}$, realizar barridos en el espectrofotómetro Thermo Scientific entre 200-400 nm comparando contra un blanco de medio de disolución correspondiente y se obtienen los datos de máxima

absorbancia. Los espectros de absorción de los productos se comparan contra el espectro de absorción de la sustancia de referencia.

Criterio de aceptación Las λ máxima de la sustancia de referencia y de los productos bajo estudio deben ser las mismas y la diferencia en absorbancia no debe ser mayor del 3%.

6.7. Pruebas de control de calidad para metronidazol tabletas

Valoración del principio activo

Para la valoración del principio activo se procedió como lo marca la FEUM. Contiene no menos del 90% y no más 110% de la cantidad de $C_6H_9N_3O_3$, indicada en el marbete.

Uniformidad de contenido (variación de masa)

Pesar con exactitud 10 tabletas individualmente. Calcular el contenido del contenido del principio activo en cada una de las 10 tabletas expresado como el porcentaje de la cantidad declarada, relacionando la masa de cada tableta con el resultado de la valoración del principio activo obtenido. Calcular el valor de aceptación.

Identidad

El espectro UV de la preparación de la muestra corresponde al obtenido con la preparación de referencia según se indica en la *Disolución*. Emplear celdas de 1.0 cm y solución ácido clorhídrico 0.1 N como blanco de ajuste.

Prueba de disolución

Se realizó la prueba de disolución a 6 tabletas del producto de prueba (Messeldazol, metronidazol 500 mg) y a 6 tabletas del producto de referencia (Flagyl, metronidazol 500 mg) en las condiciones experimentales que se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 5. Condiciones experimentales empleadas en la prueba de disolución

Aparato de disolución	Aparato 1 (Canastilla)
Temperatura del medio de disolución	37 °C ± 0.5 °C
Volumen de medio de disolución	900 ml
Velocidad de agitación	100 rpm ± 4 %
Tiempo farmacopéico para criterio de Q	60 minutos
Volumen de la alícuota tomada	2 mL
Q	85%
Dilución	2mL del filtrado en 100 ml de medio de disolución

Procedimiento

Preparación de la solución del estándar de referencia: pesar una cantidad de la sustancia de referencia equivalente a 11 mg de metronidazol, pasar a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver, llevar al aforo con medio de disolución y mezclar. Pasar una alícuota de 10 mL, de esta solución, a un matraz volumétrico de 100 mL. Llevar al

aforo con medio de disolución y mezclar. Esta solución contiene 11 µg /mL de metronidazol.

Colocar cada tableta en el aparato, utilizar 900 ml del medio de disolución, accionar a 100 rpm durante 60 min y filtrar una porción de esta solución. Pasar una alícuota de 2.0 mL del filtrado equivalente a 1.0 mg de metronidazol a un matraz volumétrico de 100 mL. Llevar al aforo con el medio de disolución y mezclar. Obtener las absorbancias de la preparación de la muestra y de referencia a la longitud de 278 nm, utilizar celdas de 1.0 cm y el medio de disolución como blanco de ajuste. Calcular el porcentaje de metronidazol disuelto, para cada una de las seis tabletas, por medio de la siguiente fórmula:

$$CD = \left(\frac{Am}{Aref} \right)$$

Donde:

C= Cantidad de metronidazol por mililitro en la preparación de referencia.

D= Factor de dilución de la muestra

Am= Absorbancia obtenida con la preparación de la muestra

Aref= Absorbancia obtenida con la preparación de referencia

Interpretación

Muestra unitaria

A menos que la monografía del producto correspondiente indique una especificación especial, realizar la prueba con seis muestras (S1) y ninguno de los resultados individuales deberá ser menor que Q+5 por ciento.

Tabla 6. Tabla de aceptación para muestras unitarias

Etapa	No. de unidades	Criterio de aceptación
S1	6	Cada unidad es no menor que Q +5 por ciento

6.8. Disolución intrínseca

Se evaluó la disolución intrínseca de 12 tabletas planas conteniendo metronidazol en las condiciones experimentales que se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 7. Condiciones experimentales empleadas en el estudio de disolución intrínseca

Aparato de disolución	Aparato de disolución intrínseca de la USP sistema de disco rotatorio (Aparato de Wood Modificado) Ver Figura 7
Temperatura del medio de disolución	37 °C ± 0.5 °C
Volumen de medio de disolución	500 mL
Velocidad de agitación	100 rpm ± 4 %
Tiempos de muestreo	5, 10, 15 20 y 30 minutos
Volumen de muestra tomada	1mL
Cantidad promedio de metronidazol por tableta	592 mg
Diámetro promedio de la tableta	1.2 cm
Dilución	1 mL de las muestra en 9 mL de medio de disolución

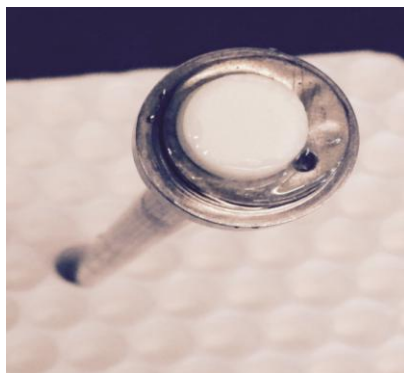


Figura 7. Aparato de Wood modificado, la resina epóxica adhiere la tableta al vástago y mantiene constante la superficie de la tableta

Montaje de las tabletas

- 1) Preparar la mezcla de resina según las indicaciones del producto.
- 2) Pegar las tabletas al soporte de las canastas del aparato disolutor con la resina.
- 3) Recubrir con resina perfectamente la circunferencia de cada una de las 12 tabletas. Solo la cara superior se dejara libre de resina. Utilizar pinzas y espátula para una correcta manipulación.
- 4) Medir el diámetro de las tabletas con vernier y calcular el área expuesta.

Disolución

Preparar el medio de disolución y degasificarlo de acuerdo a la USP

Para evitar la presencia de gases en el medio de disolución. Un método para degasificar es calentar el medio a 45 °C, filtrar inmediatamente a través de un filtro con porosidad 0.45 μm o menor, agitar vigorosamente y continuar la agitación en el vacío.

- 1) Encender el disolutor y el termocirculador. Ajustar la velocidad de agitación de los vástagos a 100 rpm ya la temperatura a 37 °C.
- 2) Medir 900 mL de medio de disolución a temperatura ambiente con ayuda de una probeta de 1000 mL y vaciarlo en cada vaso del disolutor.
- 3) Cuando la temperatura del medio de disolución en cada uno de los vasos alcance los 37 ± 0.5 °C, Accionar el controlador de velocidad de agitación de los vástagos, encender el cronómetro y bajar el cabezal.

Procedimiento de muestreo

- a) Utilizar una jeringa por vaso
- b) Purga: un minuto antes de la toma de muestra tomar 5 mL con las jeringas a las que se les instaló previamente el filtro después de succionar quitar la manguerilla con el filtro y regresar el líquido por las paredes del vaso.
- c) Retirar una muestra de 3 mL de cada vaso empleando una jeringa provista de una extensión de plástico y un filtro de teflón, a los 5, 10, 15 20 y 30 minutos. Hacer una dilución tomando un 1 mL de la muestra y 9 mL de medio de disolución en tubo con tapón de rosca, agitar en vórtex.
- 4) Obtener lecturas de absorbancia de cada una de las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 278 nm, utilizando medio de disolución como blanco de ajuste.

6.9. Perfiles de disolución

Se realizó la disolución de 12 unidades de dosificación (prueba y referencia) en las condiciones experimentales que se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 8. Condiciones experimentales empleadas para llevar a cabo el estudio de perfiles disolución

Aparato de disolución	Aparato de disolución de la USP (Método 1) (Canastilla)
Temperatura del medio de disolución	37 °C ± 0.5 °C
Volumen de medio de disolución	900 mL
Velocidad de agitación	100 rpm ± 4 %
Tiempos de muestreo	10, 15, 20, 30, 45 y 60 minutos
Volumen de muestra tomada	3 MI
Dilución	500 µL de las muestras obtenidas con 9.5 mL de medio de disolución

Perfil de disolución

1. Encender el disolutor y el termocirculador. Ajustar la velocidad de agitación de los vástagos a 100 rpm y la temperatura a 37 °C.
2. Medir 900 mL de medio de disolución a temperatura ambiente con ayuda de una probeta de 1000 mL y vaciarlo en cada vaso del disolutor.
3. Cuando la temperatura del medio de disolución en cada uno de los vasos alcance los 37 ± 0.5 °C. Colocar una tableta en

cada una de las canastillas, colocar éstas últimas en los vástagos del disolutor y encender el controlador de velocidad de agitación a 100 rpm.

4. Sumergir las canastillas en los vasos de disolución. Al iniciar la prueba encender el cronómetro y bajar el cabezal, tomar el tiempo desde que las canastillas entran en contacto con el medio.

Procedimiento de muestreo

- a) Utilizar una jeringa por vaso.
 - b) Purga: un minuto antes de la toma de muestra tomar 5mL con las jeringas a las que se les instaló previamente el filtro. Después de succionar, quitar la manguerilla con el filtro y regresar el líquido por las paredes del vaso.
 - c) Donde una muestra de 3 mL de cada vaso empleando una jeringa provista de una extensión de plástico y un filtro de teflón, en los tiempos establecidos.
 - d) Hacer una dilución de cada una de las muestras en tubos con tapón de rosca, tomando 500 μ L de las muestras obtenidas con 9.5 mL de medio de disolución, agitar en vórtex.
- 5) Obtener lecturas de absorbancia de cada una de las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 278nm, utilizando medio de disolución como blanco de ajuste.
 - 6) Realizar el perfil de disolución de cada medicamento con un total de 12 unidades en el medio de disolución.

Detalle de cálculo Se determina el porcentaje disuelto de cada tableta por cada tiempo de muestreo sin reposición de medio de disolución utilizando las fórmulas siguientes:

$$D_i = X_i * V_i + \sum_{i=0}^{N-1} E_i$$

$E_i = (X_i)(FD)(V) \rightarrow$ Cantidad de fármaco en cada alícuota (mg)

$D_i = (X_i)(FD)(V_i) + E_i \rightarrow$ Cantidad de fármaco disuelto al i-ésimo t de muestreo.

$Y_i =$ Absorbancia

$FD =$ Factor de dilución.

$$\% D_i = (D_i/Dosis) * 100$$

Para el cálculo se emplea la dosis nominal del fármaco.

$X_i = (Y_i - A) / B \rightarrow$ Concentración de la muestra ($\mu\text{g/mL}$)

7. RESULTADOS

7.1. Validación con el fármaco

Tabla 9. Linealidad y precisión en solución HCl pH.1.2

C($\mu\text{g/ml}$)	Abs($\lambda=278$ nm)			Factor de respuesta			
	Curva1	Curva 2	Promedio				
1	0.039	0.039	0.039	0.039			
5	0.190	0.188	0.189	0.038			
10	0.374	0.374	0.374	0.038			
20	0.749	0.737	0.743	0.037			
30	1.000	1.100	1.099	0.037			
40	1.498	1.480	1.489	0.038			
			b	0.00136	Media	0.038	
			m	0.03743		DE	0.0007
			r	0.99993		%CV	1.78
			Sy/x	1.09			

Tabla 10. Estabilidad del estándar en HCl pH.1.2

	T _o	24 h	
	Sol 40(μg/ml)	Temperatura ambiente	refrigeración
Abs(λ=278 nm)	1.501	1.483	1.496
	% diferencia absoluta	1.20	0.33
	T _o	76 h	
	sol 40(μg/ml)	Temperatura ambiente	refrigeración
Abs(λ=278 nm)	1.510	1.480	1.504
	% diferencia absoluta	1.60	0.40

Tabla 11. Influencia del filtro en solución HCl pH.1.2

Muestra	Abs(λ=278 nm) Conc. (40 μg/mL)	% retenido
Sin filtrar	1.501	
1	1.491	0.67
2	1.485	1.07
3	1.496	0.33
4	1.483	1.20
5	1.493	0.53
6	1.484	1.13
	Promedio	0.82

7.2. Validación con el medicamento

Tabla 12. Linealidad del método para MESSELDAZOL en solución HCl pH 1.2 Día 1

DÍA 1			
C(μg/ml)	Abs(λ =278 nm)		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1	0.037	0.038	0.040
5	0.183	0.190	0.187
10	0.367	0.367	0.381
20	0.746	0.759	0.760
30	1.114	1.000	1.128
40	1.469	1.5	1.496
b	0.0011	0.0004	0.0045
m	0.0369	0.0373	0.0374
r	0.9999	0.9999	0.9999
(Sy/x,r)	0.98	1.54	0.78

Tabla 13. Linealidad del método para MESSELDAZOL en solución HCl pH.1.2 Día 2

DÍA 2			
C(μg/ml)	Abs(λ=278 nm)		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1	0.037	0.036	0.037
5	0.183	0.181	0.200
10	0.366	0.363	0.361
20	0.727	0.724	0.729
30	1.097	1.104	1.08
40	1.469	1.473	1.455
b	-0.0013	-0.0046	0.0065
m	0.0367	0.0369	0.0361
r	0.9999	0.9999	0.9999
(Sy/x,r)	0.52	0.80	1.45

Tabla 14. Precisión y exactitud del método para MESSELDAZOL en solución HCl pH.1.2

	REPETIBILIDAD				REPRODUCIBILIDAD		EXACTITUD			
	DÍA 1		DÍA 2		DÍA1 Y 2		DÍA 1		DÍA 2	
C(µg/mL)	C(µg/mL) exp promedio	%CV	C(µg/mL) exp promedio	%CV	C(µg/mL) exp promedio	%CV	C(µg/mL)	% DA	C(µg/mL)	% DA
1	0.98	2.97	0.99	0.13	0.98	1.51	0.98	2.35	0.99	0.14
5	4.96	2.06	5.14	0.04	5.05	2.51	4.96	0.75	5.14	2.81
10	9.93	1.26	9.93	0.01	9.94	0.00	9.93	0.66	9.93	0.61
20	20.24	0.33	19.88	0.01	20.06	1.24	20.24	1.18	19.88	0.58
30	29.95	0.94	29.93	0.01	29.94	0.05	29.95	0.18	29.93	0.24
40	39.94	0.47	40.11	0.01	40.03	0.30	39.94	0.141	40.11	0.27

Tabla 15. Linealidad del método para FLAGYL en solución HCl pH.1.2 Día 1

DÍA 1			
C (µg/ml)	Abs (λ =278 nm)		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1	0.040	0.037	0.037
5	0.183	0.182	0.184
10	0.377	0.369	0.366
20	0.742	0.732	0.726
30	1.130	1.097	1.09
40	1.474	1.474	1.474
b	0.0034	-0.0010	-0.0018
m	0.0370	0.0368	0.0367
r	0.9998	0.9999	0.9999
(Sy/x,r)	1.53	0.58	1.07

Tabla 16. Linealidad del método para FLAGYL en solución HCl pH.1.2 Día 2

DÍA 2			
C(µg/ml)	Abs(λ=278 nm)		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1	0.030	0.03	0.03
5	0.184	0.173	0.17
10	0.375	0.353	0.353
20	0.761	0.707	0.72
30	1.125	1.076	1.079
40	1.508	1.433	1.437
b	-0.0013	-0.0046	0.0065
m	0.0367	0.0369	0.0361
r	0.9999	0.9999	0.9998
(Sy/x,r)	0.83	0.53	0.49

Tabla 17. Precisión y exactitud del método para FLAGYL en solución HCl pH.1.2

C(µg/ml)	REPETIBILIDAD				REPRODUCIBILIDAD		EXACTITUD			
	DÍA 1		DÍA 2		DÍA1 Y 2		DÍA 1		DÍA 2	
	C(µg/ml)exp promedio	%CV	C(µg/ml) exp promedio	%CV	C(µg/ml) exp promedio	%CV	C(µg/ml)	%DA	C(µg/ml)	%DA
1	1.02	2.77	1.02	2.30	1.02	0.12	1.03	2.734	1.04	0.549
5	4.97	2.20	4.97	0.86	4.97	0.03	4.97	0.707	4.97	0.658
10	10.06	0.30	10.00	0.26	10.03	0.41	10.06	0.605	10.00	0.033
20	19.91	0.28	20.06	0.82	19.99	0.55	19.91	0.458	20.06	0.333
30	30.02	1.17	30.00	0.33	30.01	0.05	30.02	0.062	30.00	0.022
40	40.02	0.69	39.97	0.08	40.00	0.08	40.02	0.051	39.97	0.063

Selectividad

Figura 8. Estándar solución metronidazol 20 $\mu\text{g/mL}$ en solución HCl pH 1.2, absorbancia 0.733, pico 278nm

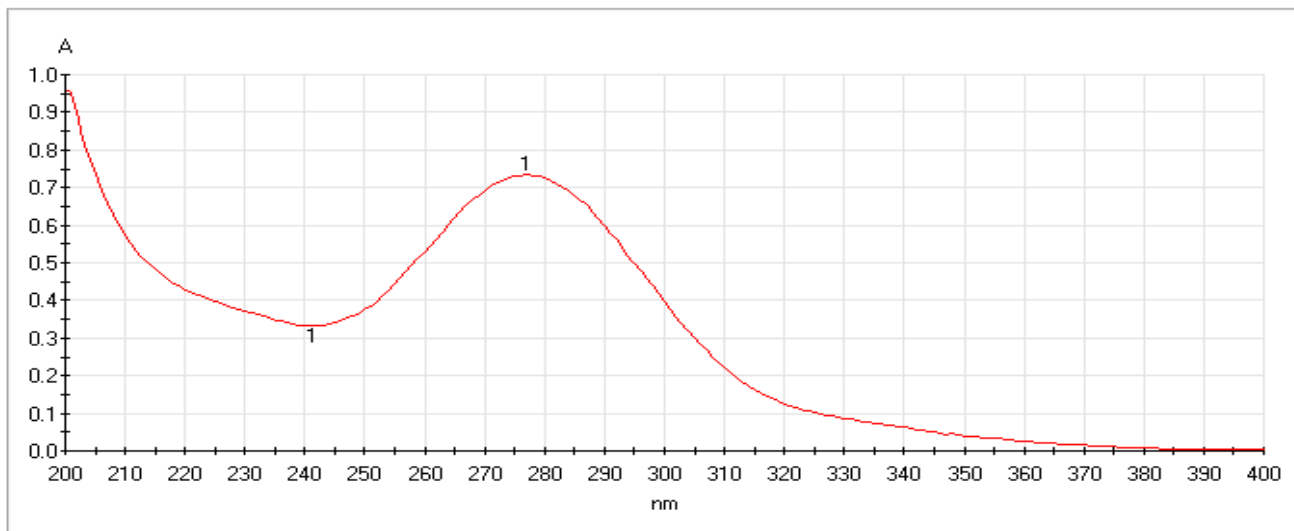


Figura 9. Medicamento de referencia Flagyl metronidazol 20 $\mu\text{g/mL}$ en solución HCl pH 1.2, absorbancia 0.745, pico 278nm

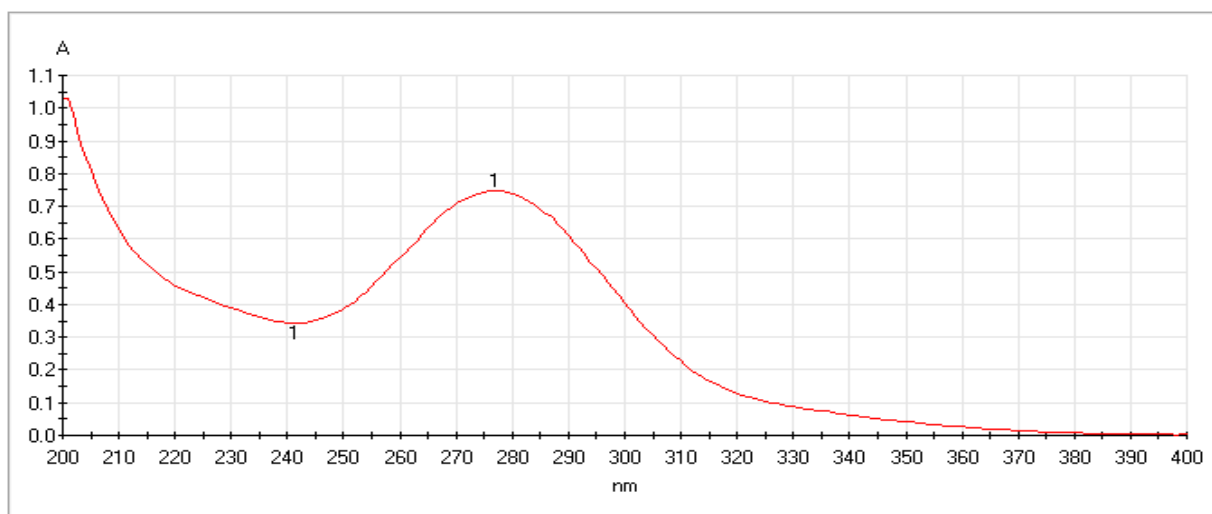


Figura 10. Medicamento de prueba Messeldazol metronidazol
20 µg /mL en solución HCl pH 1.2, absorbancia 0.744, pico 278nm

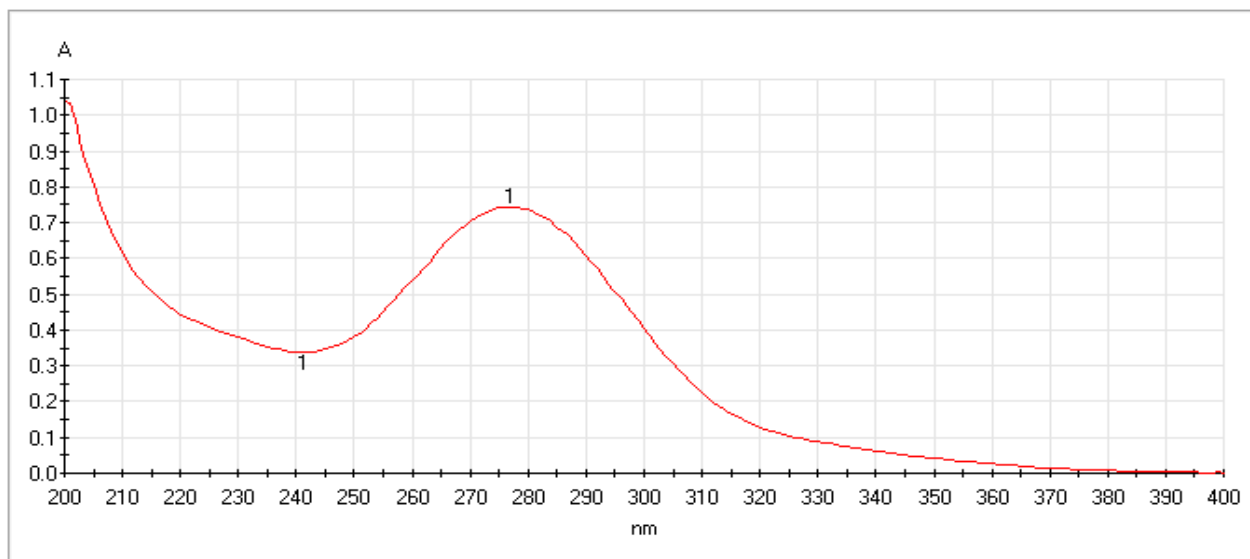


Tabla 18. Selectividad del método (%DAM. referencia y M. prueba contra el Estándar)

Selectividad	λ max Abs	Absorbancia	% DA (Diferencia absoluta)
Estándar metronidazol (metronidazol 20 µg/ml)	278nm	0.733	
Medicamento de referencia Flagyl (metronidazol 20 µg/ml)	278nm	0.745	1.64%
Medicamento de prueba Messeldazol (metronidazol 20 µg/ml)	278nm	0.744	1.50%

7.3. Control farmacéutico

Tabla 19. Control de calidad para Flagyl 500mg (referencia) y Messeldazol 500mg (prueba)

CONTROL DE CALIDAD DE TABLETAS COMERCIALES CONTENIENDO METRONIDAZOL	
	VALORACIÓN (por HPLC)
Flagyl	100.03 %
Messeldazol	100.19 %
	UNIFORMIDAD DE DOSIS (Variación de masa)
Flagyl	Valor de aceptación=2.5 < L1= 15.0, Cumple
Messeldazol	Valor de aceptación=3.8 < L1= 15.0, Cumple
	UNIFORMIDAD DE DOSIS (Uniformidad de Contenido)
Flagyl	Valor de aceptación=3.2 < L1= 15.0, Cumple
Messeldazol	Valor de aceptación=3.8 < L1= 15.0, Cumple
	PRUEBA DE DISOLUCION (Q = 85% + 5 % a los 60 minutos)
Flagyl	105.9 %
Messeldazol	109.0 %
	IDENTIDAD (Espectro UV, $\lambda=278$ nm)
Flagyl	El espectro de la muestra corresponde con el de la S. ref.
Messeldazol	El espectro de la muestra corresponde con el de la S. ref.

7.4. Disolución intrínseca

Tabla 20. mg de metronidazol disueltos a diferentes tiempos en cada vaso (1-6), disolución intrínseca

Tiempo (min)	mg en V1	mg en V2	mg en V3	mg en V4	mg en V5	mg en V6
5	132.16	93.26	101.49	99.25	100.99	94.76
10	209.93	154.14	181.99	152.93	160.66	144.71
15	289.48	214.01	237.88	230.15	238.90	211.00
20	361.10	278.16	309.83	298.96	313.70	274.45
30	401.23	432.44	481.25	492.52	425.17	436.85

Tabla 21. mg de metronidazol disueltos a diferentes tiempos en cada vaso (7-12), disolución intrínseca

Tiempo (min)	mg en V7	mg en V8	mg en V9	mg en V10	mg en V11	mg en V12
5	89.77	119.19	97.25	96.51	93.26	109.47
10	138.23	203.18	162.11	165.83	157.62	197.68
15	194.14	283.51	248.21	246.49	231.11	291.42
20	256.37	355.15	318.26	319.24	295.25	371.71
30	528.79	515.35	464.06	468.49	456.60	484.90

Tabla 22. mg promedio de metronidazol disueltos a diferentes tiempos, desviación estándar y coeficiente de variación en los 12 vasos a cada tiempo, disolución intrínseca

Tiempo (min)	mg promedio	DE	%CV
5	100.15	12.34	12.32
10	166.25	23.56	14.17
15	243.10	31.31	12.88
20	313.02	35.72	11.41
30	472.53	37.66	7.97

Tabla 23. % de metronidazol disuelto a diferentes tiempos en cada vaso (1-6), disolución intrínseca

Tiempo (min)	%disuelto V1	%disuelto V2	%disuelto V3	%disuelto V4	%disuelto V5	%disuelto V6
5	22.32	15.75	17.14	16.76	17.05	16.00
10	35.45	26.03	30.73	25.82	27.13	24.44
15	48.88	36.14	40.17	38.86	40.34	35.63
20	60.98	46.97	52.32	50.48	52.97	46.34
30	67.75	73.02	81.26	83.17	71.79	73.77

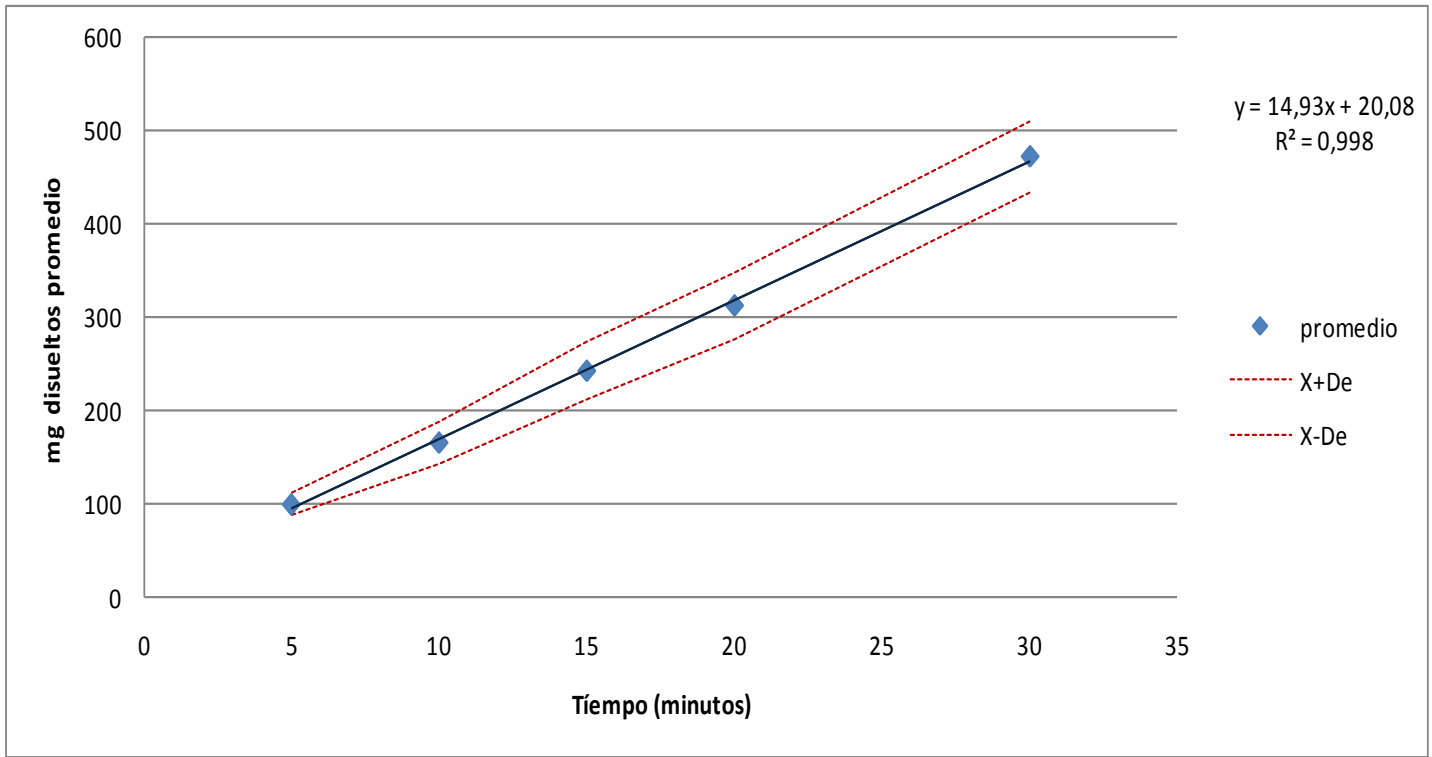
Tabla 24. % de metronidazol disuelto a diferentes tiempos en cada vaso (7-12), disolución intrínseca

Tiempo (min)	%disuelto V7	%disuelto V8	%disuelto V9	%disuelto V10	%disuelto V11	%disuelto V12
5	15.16	20.13	16.42	16.30	15.75	18.48
10	23.34	34.31	27.37	28.00	26.61	33.38
15	32.78	47.87	41.91	41.62	39.02	49.21
20	43.29	59.97	53.74	53.90	49.86	62.77
30	89.29	87.02	78.36	79.11	77.10	81.88

Tabla 25. %promedio de metronidazol disuelto, desviación estándar y coeficiente de variación de los 12 vasos a cada tiempo, disolución intrínseca

Tiempo (min)	%promedio	DE	%CV
5	17.27	2.08	12.07
10	28.55	3.98	13.94
15	41.04	5.29	12.89
20	52.80	6.03	11.42
30	78.63	6.36	8.09

Figura 11. Gráfica mg de metronidazol disueltos promedio contra el tiempo, disolución intrínseca



Diámetro promedio de tableta metronidazol estándar: 1.2 cm

Área promedio tableta metronidazol estándar: 1.131 cm²

K disolución intrínseca: 13.2 mg min⁻¹ cm⁻²

7.5. Perfiles de disolución

Tabla 26. Porcentaje disuelto a cada tiempo de muestreo en cada unidad de dosificación para producto de referencia FLAGYL

PRODUCTO DE REFERENCIA FLAGYL						
Tiempo (min)	%disuelto V1	%disuelto V2	%disuelto V3	%disuelto V4	%disuelto V5	%disuelto V6
5	21.4	24.2	23.7	23.8	25.3	24.3
10	38.8	42.8	41.8	39.5	43.7	44.7
15	55.1	58.8	61.3	54.8	59.9	59.6
20	71.9	73.2	77.2	68.4	79.2	76.2
30	98.7	99.8	102.1	93.5	100.1	102.6
45	100.3	104.6	109.2	110.1	111.7	107.3
60	108.0	106.0	110.2	110.4	113.2	108.6
Tiempo (min)	%disuelto V7	%disuelto V8	%disuelto V9	%disuelto V10	%disuelto V11	%disuelto V12
5	22.7	22.4	22.9	22.0	20.1	17.6
10	43.5	42.5	42.1	42.0	37.3	38.7
15	57.0	58.8	54.4	57.3	53.1	54.3
20	60.8	70.5	66.3	68.0	66.9	72.1
30	96.2	95.7	92.9	98.5	91.9	91.2
45	96.4	102.0	100.0	99.8	101.3	97.7
60	100.9	103.7	100.3	99.5	101.0	99.2

Tabla 27. Porcentajes disueltos a cada tiempo de muestreo en cada unidad de dosificación para producto de prueba MESSELDAZOL

PRODUCTO DE PRUEBA MESSELDAZOL						
Tiempo (min)	%disuelto V1	%disuelto V2	%disuelto V3	%disuelto V4	%disuelto V5	%disuelto V6
5	18.1	18.1	19.5	16.6	19.0	17.8
10	35.5	33.4	34.4	32.3	36.9	32.5
15	48.5	45.1	47.0	46.5	48.9	46.0
20	60.9	61.0	64.5	61.0	61.4	57.8
30	82.7	79.3	81.4	80.4	88.6	78.6
45	105.7	102.6	105.7	107.1	108.0	105.9
60	107.0	105.3	107.8	109.5	109.7	105.9
Tiempo (min)	%disuelto V7	%disuelto V8	%disuelto V9	%disuelto V10	%disuelto V11	%disuelto V12
5	22.5	21.1	23.0	21.8	21.8	22.7
10	36.4	34.9	38.6	35.9	36.7	36.9
15	49.6	48.1	51.8	49.9	50.2	50.6
20	60.4	59.8	64.3	62.4	64.4	63.5
30	80.0	80.6	83.7	82.5	85.5	84.0
45	107.3	108.0	108.3	108.1	104.8	106.1
60	109.3	111.8	111.0	109.4	106.0	107.8

Tabla 28. Porcentaje promedio de metronidazol disuelto, porcentaje disuelto máximo y mínimo y %CV en producto de referencia (12 tabletas) y de prueba (12 tabletas) con respecto al tiempo

Perfiles de disolución	Producto de referencia (FLAGYL)				Producto de prueba (MESSELDAZOL)			
	% Disuelto Promedio	%Disuelto MIN	%Disuelto MAX	%CV	% Disuelto Promedio	%Disuelto MIN	%Disuelto MAX	%CV
5	22.5 ± 1.84	17.6	24.3	8.17	20.2 ± 2.74	16.6	25.3	13.53
10	41.4 ± 2.24	37.3	44.7	5.40	35.4 ± 2.75	32.3	38.6	7.26
15	57.1 ± 2.34	53.1	59.9	4.10	48.6 ± 3.04	45.1	51.8	6.26
20	71.0 ± 4.46	60.8	79.2	6.28	61.9 ± 2.95	57.8	64.5	4.77
30	97.2 ± 3.07	91.2	102.6	3.16	82.5 ± 3.70	80.0	88.6	4.48
45	103.9 ± 3.80	96.4	111.7	3.65	106.8 ± 3.53	102.6	108.3	3.30
60	105.9 ± 3.27	99.2	113.2	3.08	109.0 ± 3.93	105.3	111.8	3.61

Figura 12. Gráfica de los porcentajes de metronidazol disuelto para 12 tabletas de producto de prueba contra el tiempo

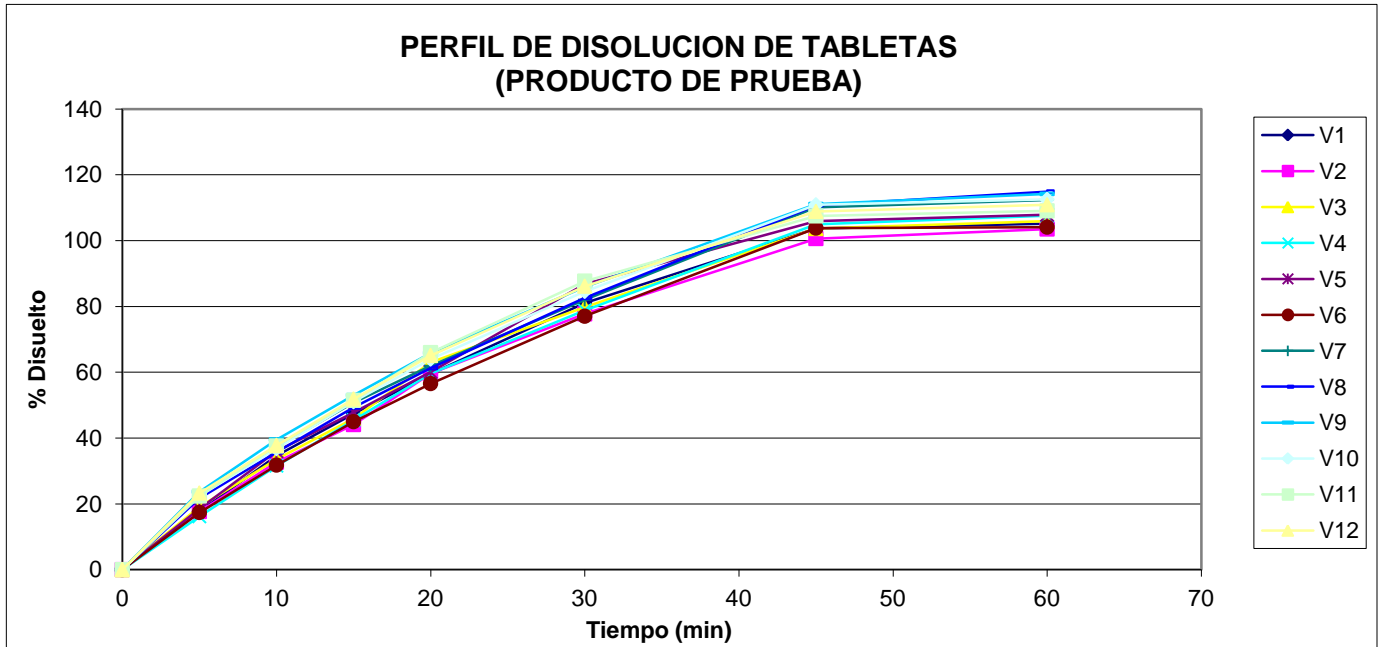


Figura 13. Gráfica del porcentaje promedio de metronidazol disuelto de 12 tabletas de producto de prueba contra el tiempo

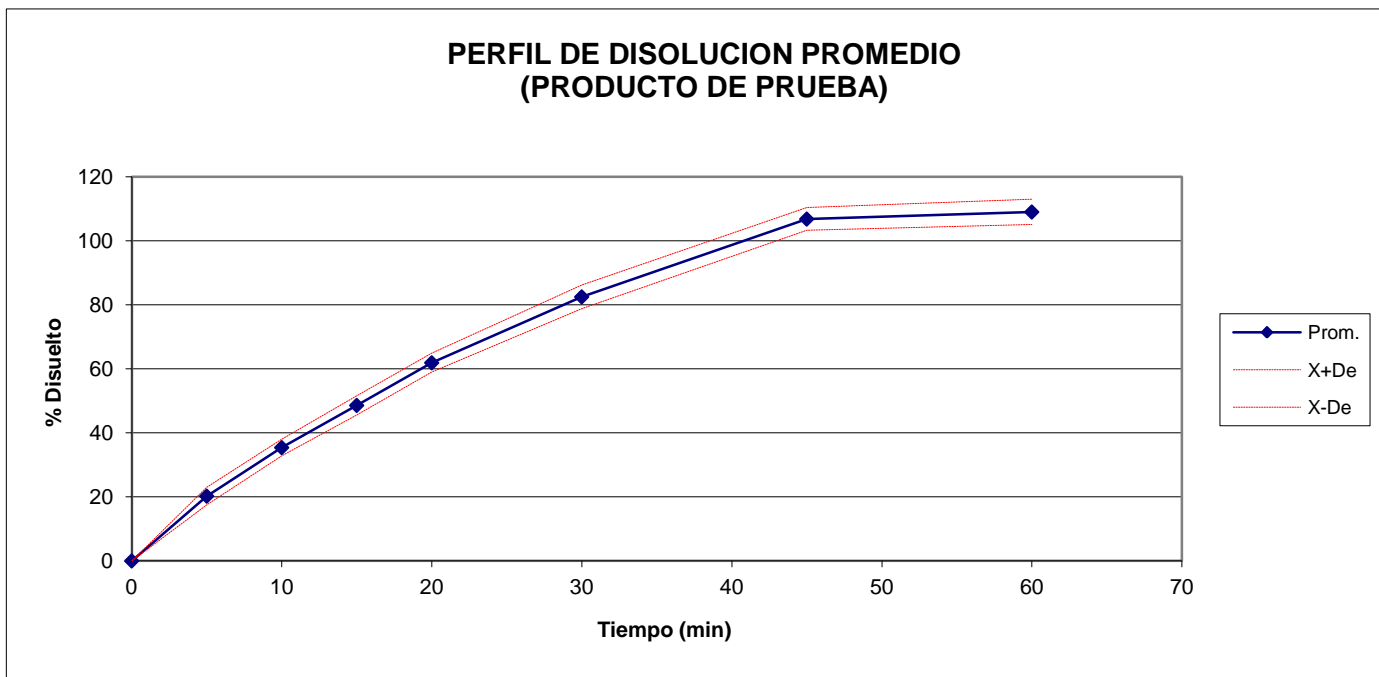


Figura 14. Gráfica de los porcentajes de metronidazol disuelto para 12 tabletas de producto de referencia contra el tiempo

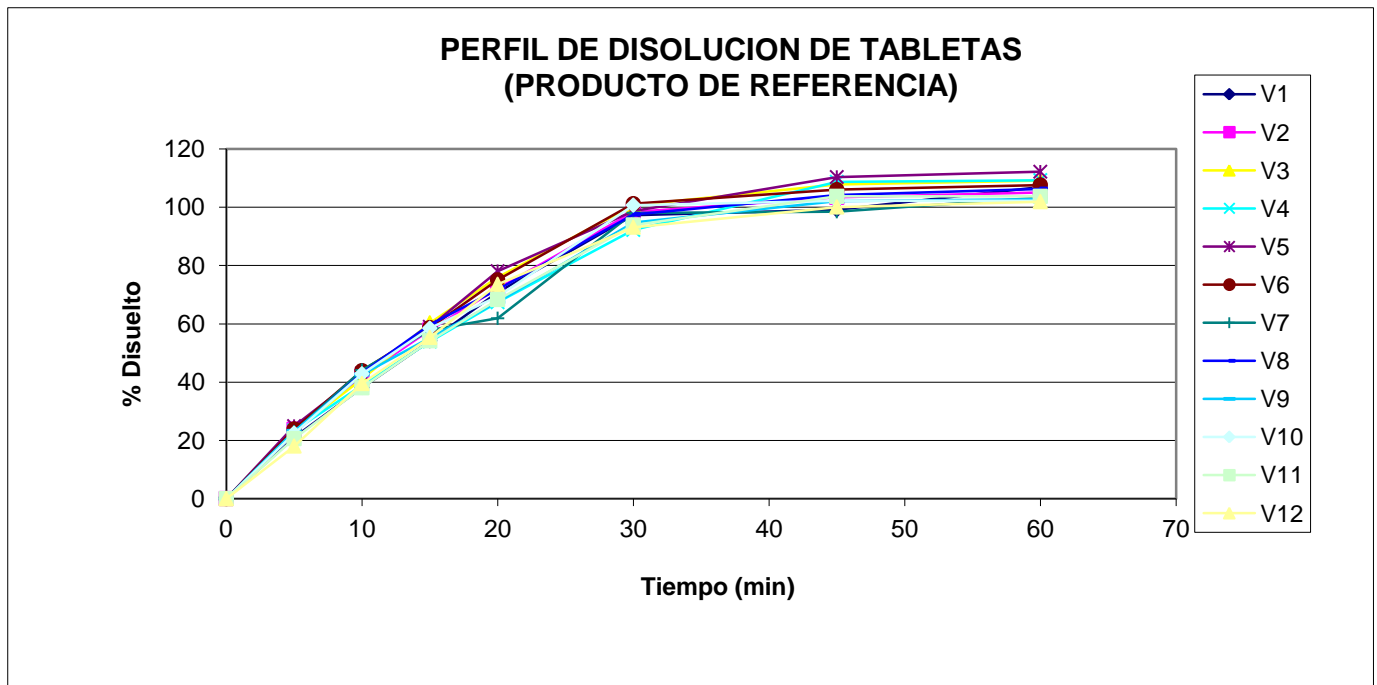


Figura 15. Gráfica del porcentaje promedio de metronidazol disuelto para 12 tabletas de producto de referencia contra el tiempo

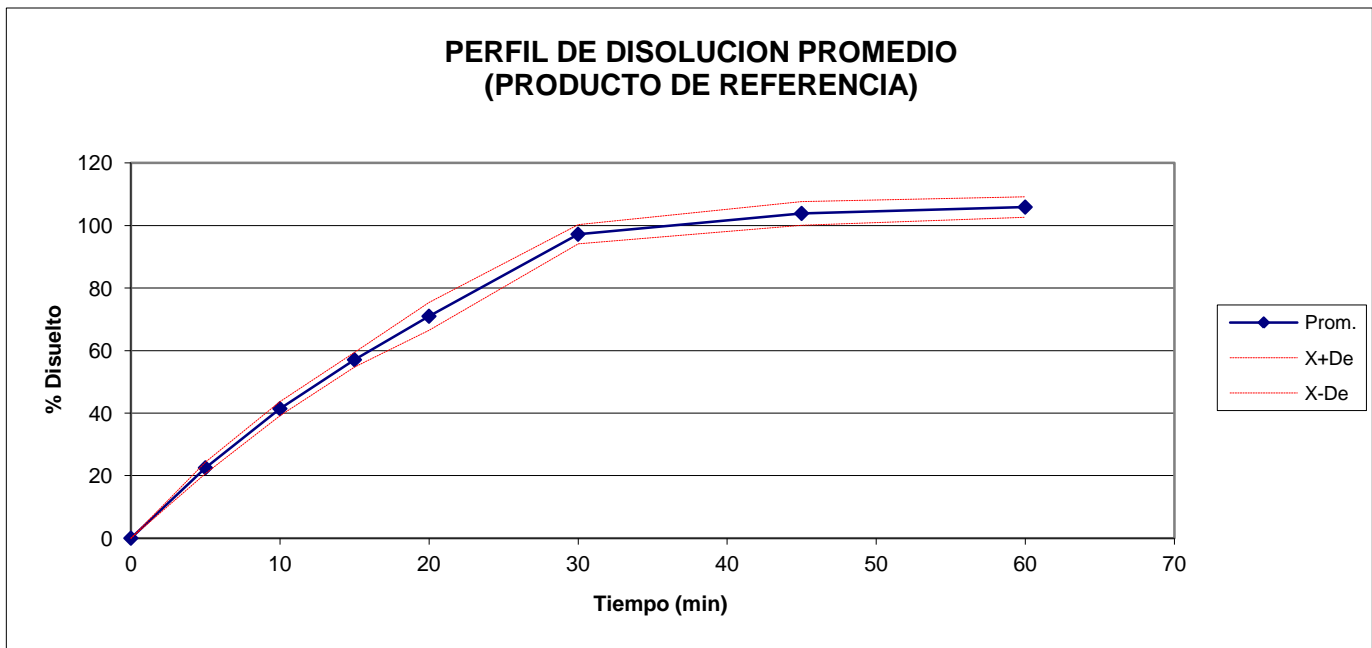


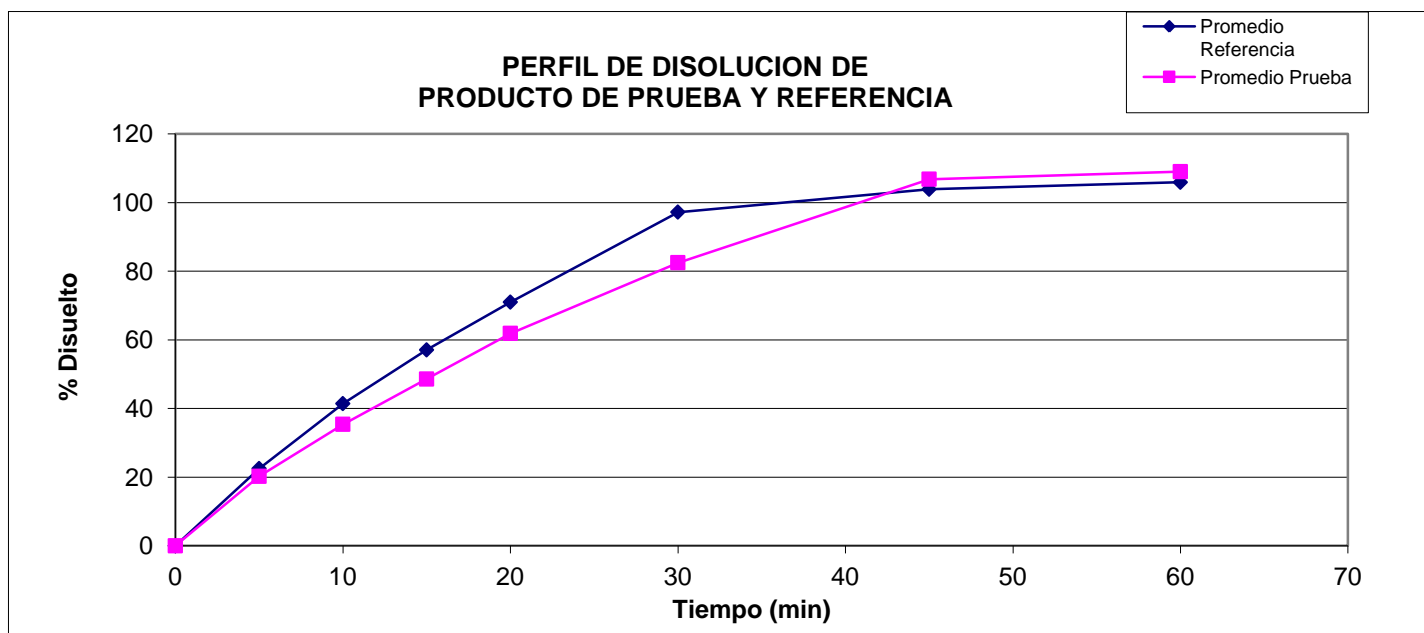
Tabla 29. Porcentajes promedio del fármaco disuelto en referencia y prueba para el cálculo de f_2

		%Disuelto	% Disuelto				
	Tiempo	Promedio	Promedio	Referencia	Prueba		
N	Min	Referencia	Prueba	Rt	Pt	(Rt-Pt)	(Rt-Pt) ²
1	5	22.50	20.20	22.50	20.20	2.30	5.29
2	10	41.40	35.40	41.40	35.40	6.00	36.00
3	15	57.10	48.60	57.10	48.60	8.50	72.25
4	20	71.00	61.90	71.00	61.90	9.10	82.81
5	30	97.20	82.50	97.20	82.50	14.70	216.09
						Suma	412.44
Rt=	% Dis. Prom en el tiempo t del medicamento de referencia						
Pt=	% Dis. Prom en el tiempo t del medicamento de prueba						
n=	No. De tiempos de muestreo						

$$f_2 = 50 \text{ Log} \{ [1 + (1/5) (412.4)]^{-0.5} \times 100 \}$$

$$f_2 = 52.0$$

Figura 16. Gráfica en la que se compara el perfil de disolución promedio del producto de prueba contra el de referencia



8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Al producto de prueba Messeldazol (metronidazol 500 mg) y al de referencia Flagyl (metronidazol 500 mg) se les realizaron las pruebas de valoración por HPLC, uniformidad de dosis por variación de masa y ensayo de identidad por espectrofotometría UV cumpliendo con lo que marca la FEUM onceava edición. Como lo marca la NOM-177-SSA1-2013 el porcentaje de valoración del medicamento de prueba se encontró dentro de los límites farmacopéicos, al ser de 100.19 % estando dentro del intervalo que va del 90% al 110% , y no varía en más del 5% del medicamento de referencia el cual tuvo una valoración del 100.03%.

En las Tablas 9-18 y las Figuras 8-10 se muestra que el método analítico por espectrofotometría UV a 278 nm en ácido clorhídrico 0.1 N pH 1.2 para cuantificar metronidazol cumplió con los parámetros que establece la norma para la validación con el fármaco y con el medicamento (referencia y prueba). Resultando ser lineal, exacto, preciso, selectivo y sin influencia del filtro en un rango de 1 a 10 µg/mL. Esto nos dice que el método provee un alto grado de certidumbre para lo que fue diseñado y que va a producir consistentemente resultados que cumplan con las especificaciones y atributos de calidad que la norma marca.

El filtro de teflón utilizado al evaluar la influencia del filtro produjo un porcentaje de fármaco adherido del 0.82%, al haber cumplido con lo que marca la norma se decidió ocuparlo para la toma de muestra en los estudios posteriores. Se evaluó la estabilidad del principio activo al comparar las absorbancias de muestras al tiempo cero; después de 24 horas a temperatura ambiente y en refrigeración; y después de 76 horas a temperatura ambiente y en refrigeración. Se observa en la

Tabla 10 que para los dos tiempos evaluados la diferencia es menor del 2% con refrigeración y sin refrigeración. Los resultados fueron los esperados al reportarse una absorbancia menor que la del tiempo cero después de las 24 horas en refrigeración y a su vez ésta última al ser mayor que después de las 24 horas sin refrigeración. Para el segundo tiempo evaluado los resultados obtenidos siguieron el mismo patrón esperado que para el primer tiempo.

Posterior a la validación del método, empleando el método farmacopéico para la prueba de disolución se encontró que ninguno de los resultados de las 6 muestras (S1) fue menor que $Q + 5\%$ a los 60 minutos, con una $Q = 85\%$ como lo indica la monografía para metronidazol tabletas, y cumplió con lo establecido para la prueba de disolución FEUM MGA 0291 y USP para cada una de las 6 tabletas del producto de prueba (Messeldazol, metronidazol 500 mg). Por lo tanto, solamente se realizó la prueba de la muestra unitaria sin tener que pasar a pruebas subsecuentes. De la misma forma seis tabletas del producto de referencia (Flagyl, metronidazol 500 mg) cumplieron con lo mencionado produciendo porcentajes disueltos del fármaco que guardan relación con lo establecido en la valoración.

Los resultados de la validación del método y de la prueba de disolución nos llevan a pensar que tanto el método de cuantificación como los productos evaluados son adecuados para el desarrollo de una sección de las prácticas de Biofarmacia si se utilizan condiciones similares de trabajo.

Por otro lado, la constante de disolución intrínseca ($K_{int} = 13.2 \text{ mg min}^{-1} \text{ cm}^{-2}$) obtenida a partir de los mg promedio disueltos de metronidazol de 12 tabletas de metronidazol puro a diferentes tiempos nos indica que el fármaco es de alta solubilidad en ácido

clorhídrico 0.1 N pH 1.2 al superar el valor de $1 \text{ mg min}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ que se considera como valor límite para correlacionar la velocidad de la disolución intrínseca con la solubilidad. Es importante señalar algunos factores que afectaron la realización de esta prueba: en primer lugar; debido a que las tabletas fueron fabricadas manualmente por compresión directa algunas de ellas sufrieron despostillamiento o algún grado de fragmentación lo cual, aunado a una diferencia en compresibilidad, pudo haber afectado en la uniformidad de peso del comprimido y por lo tanto en la variabilidad de los porcentajes disueltos del fármaco con la correspondiente variación en la constante de disolución intrínseca que esto produce. M.G. Issa y colaboradores en 2013 concluyeron en un estudio en el que se evaluó el impacto de diferentes variables en la disolución intrínseca del metronidazol que aunque la presión usada para la formación del producto compactado no tiene impacto alguno en la constante de disolución intrínseca, como sí lo tiene la velocidad de rotación y el medio de disolución, éste sí contribuye en hacer el estudio viable ya que una correcta compactación permite mantener un área superficial constante. ⁽³⁸⁾ Es en este otro sentido que se recomendaría la fabricación de tabletas con otro procedimiento de compactación en el cual se utilice una presión estándar.

Se pudo comparar los perfiles de disolución empleando la prueba de (f_2) (modelo independiente de comparación de perfiles) ya que como se muestra en la Tabla 28 para el primer tiempo de muestreo el CV% del porcentaje disuelto fue menor del 20% y menor del 10% para los tiempos subsecuentes de acuerdo con lo que marca la norma. Asimismo no se pudo prescindir de la prueba de (f_2) y clasificar a los productos como de muy rápida disolución, porque ni el medicamento

de prueba ni el medicamento de referencia se disolvieron 85% o más en 15 minutos, o menos tiempo, en el medio de disolución.

En la Figura 16 se encuentran graficados los perfiles de disolución promedio de los productos bajo estudio en donde se puede observar las diferencias en el comportamiento de disolución del producto de prueba con respecto al innovador. El producto de referencia se disolvió más rápido que el de prueba al haberse disuelto el 85% del fármaco antes de los 30 minutos, rápida disolución, mientras que el de prueba alcanzó el 85% disuelto después de los 30 minutos.

Conforme también lo marca la norma para realizar el perfil de disolución se seleccionaron 7 puntos, cumpliendo con lo establecido; mínimo 5 puntos, para poder caracterizar la curva ascendente (3 puntos) y la fase de meseta (2 puntos). Se compararon los valores promedio de porcentaje de fármaco disuelto desde el primer tiempo de muestreo hasta un tiempo posterior al que se alcanzó el 85% disuelto del fármaco para el medicamento de referencia (mínimo 3 puntos según la norma). De esta forma, se utilizaron 5 puntos para comparar el perfil de prueba y el de referencia con porcentajes de disolución promedio que rondan el 100% a los 30 minutos, éste último fue el tiempo posterior al que se alcanzó el 85% disuelto para el producto de referencia. Tomando esto en cuenta al calcular (f_2), el valor obtenido fue de 52.0 que por ser mayor de 50 se concluye que los perfiles de disolución de ambos productos son similares.

9. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Se propuso una metodología experimental adecuada con apego a la NOM-177-SSA1-2013 para el diseño de prácticas que formen parte del próximo manual de laboratorio de la materia de Biofarmacia, impartida en la Facultad de Química de la UNAM, que contemple al metronidazol como fármaco y medicamento de estudio.

Se obtuvieron resultados preliminares de las prácticas propuestas que cumplen con los criterios establecidos por la normatividad vigente:

Se validó un método analítico con el fármaco y con el medicamento por espectrofotometría UV siendo lineal, exacto, preciso, selectivo y sin influencia del filtro el cual se utilizó para cuantificar metronidazol en muestras provenientes de un estudio de disolución intrínseca y de otro de perfiles de disolución de tabletas comerciales conteniendo metronidazol. La constante de disolución intrínseca de tabletas de metronidazol empleando la técnica de la superficie constante fue $K_{int} = 13.2 \text{ mg min}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ que por ser mayor de $1 \text{ mg min}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ nos permite afirmar que el fármaco es de alta solubilidad. El perfil de disolución de un producto genérico de metronidazol (Messeldazol, metronidazol 500 mg) es similar con respecto al perfil de disolución del producto de referencia (Flagyl, metronidazol 500 mg) con un factor de similitud entre ambos de $f_2 = 52.0$.

Se recomienda la inclusión de la información teórica y práctica que aquí se plantea con la intención de que el alumno pueda relacionar las clases de teoría y problemas con el laboratorio. Lo cual hará que estos temas sean de mayor interés y cobren un mayor significado para el estudiante al hacerlo consciente de la relevancia y el impacto que tienen los estudios de intercambiabilidad en la actualidad.

10. Referencias Bibliográficas

1. Obaya, A. y Delgadillo, G. La investigación como principio didáctico en el laboratorio de Química Industrial. *Educación Química*, 14 [1], 10-1 (2003).
2. Obaya-Valdivia A. (2005). Enseñanza experimental de la Química Descubrimiento y solución de problemas. *Educación Química*. (16).
3. Dokoumetzidis Aristides, MacherasPanos. (2006). A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System. *International Journal of Pharmaceutics*.321. 1–11.
4. Martinez, M. N., Amidon, G. L. (2002).A Mechanistic approach to understanding the factors affecting drug absorption: A review of fundamentals. *J. Clin. Pharmacol.* 42 (6), 620–643.
5. Sinko J. (2011).*Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences: physical chemical and biopharmaceutical principles in the pharmaceutical sciences*.Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, PA, EUA. (pp. 302,311).
6. Issa M. G., Ferraz H. G. (2011). Intrinsic Dissolution as a Tool for Evaluating Drug Solubility in Accordance with the Biopharmaceutics Classification System. *Dissolution Technologies*.18 (3), 6-13.
7. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013, 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 de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad. [Consultado: 3 Marzo 2015]. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5314833&fecha=20/09/2013.

-
8. FDA. (2003) Guidance for industry. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products. General Considerations. 3-5.
 9. FDA. (1997) Guidance for industry. Dissolution testing of immediate release solid dosage forms. 1-11.
 10. Lennernäs, H.; Abrahamsson, B. (2005). The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. *J. Pharm. Pharmacol.* 57, 273–285.
 11. FDA. (1997) Guidance for industry. Dissolution testing of immediate release solid dosage forms. 1-11. 1-2.
 12. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (2014). Volumen I. p.301
 13. FDA. (2000) Guidance for Industry. Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. 1-13.
 14. Moore J W, Flanner HH. (1996) Mathematical comparison of curves with an emphasis on in vitro dissolution profiles. *PharmTech*. 20(6): 64-74.
 15. Farmacopea Europea. Octava Edición. 2013. 331-332
 16. Issa Michele G. and FerrazHumberto G. (2011) Intrinsic Dissolution as a Tool for Evaluating Drug Solubility in Accordance with the Biopharmaceutics Classification System. *Dissolution Technologies*. diss-18-03-02&12.indd
 17. Yu, L. X.; Carlin, A. S.; Amidon, G. L.; Hussain A. S. *Int. J. Pharm.* (2004) Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. 270 (1-2), 221–227.
 18. Situación del sector farmacéutico en México. (2010) Centro de Estudios Sociales y de Opinión Pública Cámara de Diputados / XVI Legislatura. Primera Edición. p 21.

-
19. Cruz Carlos, Luna Gabriela, Morales Raquel y Coello Carlos. (2006) Gasto catastrófico en salud y elasticidades. Ingreso por tipo de gasto en servicios de salud en México. *Bienestar y Política Social*.vol. 2.núm. 1.México.p. 52.
20. WHO. (2004) Equitable access to essential medicines: a framework for collective action. Geneva: World Health Organization.
21. Secretaría de Salud. (2005) Hacia una política farmacéutica integral para México. México D.F. Primera edición. p. 19.
22. DOF. (2014) Reglamento de Insumos para la Salud.
23. KPMG de México. (2006) La industria Farmacéutica en México.
- 24.OMS. (2006) Salud pública, innovación y derechos de propiedad intelectual, Informe de la Comisión de Derechos de Propiedad Intelectual, Innovación y Salud Pública.
25. WHO. (2004) The World Medicines Situation. Geneva: World Health Organization.
26. Ramírez Rojas José Antonio, et al. (2010) Nomenclatura de fármacos, patentes y medicamentos genéricos en México. *El Residente, Órgano Oficial del Instituto Científico Pfizer*. Vol. 5 Número 3.
27. Notimex (2015, 21 de julio). Destaca Cofepris seguridad y calidad de medicamentos autorizados. *Notimex*. [Consultado: 13 Agosto 2015]. Disponible en: <http://www.notimex.com.mx/acciones/verNota.php?clv=316027>
28. DOF. (2008) Acuerdo por el que se adiciona y modifica la relación de especialidades farmacéuticas susceptibles de incorporarse al Catálogo de Medicamentos Genéricos.
29. World Health Organization (WHO). (2009) WHO Model Lists of Essential Medicines, 16th ed.
30. Monografía del producto Frágil (Metronidazol). SANOFI-AVENTIS Canada Inc. 7 Noviembre (2013)

-
31. Sweetman SC. (2009) *Martindale: The complete drug reference*. 36th ed. London: Pharmaceutical Press, pp 837–841.
32. Löfmark S, Edlund C, Nord CE. (2010) Metronidazole Is Still the Drug of Choice for Treatment of Anaerobic Infections. *Clinical Infectious Diseases Oxford Journal*. 1;50Suppl 1:S16-23.
33. Simms-Cendan JS.(1996) Metronidazole. *J Infect Dis* 3(5):153–156.
34. Bruce Chabner, Laurence Brunton, Bjorn Knollman.(2011). *Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics*.12th ed. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division, pp, 1105–1109.
35. Troy DB, ed. (2005) *Remington: The science and practice of pharmacy*. 21st ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, pp, 1669.
36. Wu Y, Fassini R. (2005) Stability of metronidazole, tetracycline HCl and famotidine alone and in combination. *Int J Pharm*. 290:1–13.
37. Fragmento del Listado de Medicamentos de Referencia [Consultado: 25 Septiembre 2015]. Disponible: <http://www.cofepris.gob.mx/AS/Paginas/Registros%20Sanitarios/RegistroSanitarioMedicamentos.aspx>
38. M.G .Issa et. al. (2013) Evaluating the impact of different variables in the intrinsic dissolution of metronidazole. *International Journal of Pharmacy and Engineering*. pp 17-29.