



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

INFORME DE ACTIVIDADES DEL SERVICIO SOCIAL:

ENSAYOS PRELIMINARES DE PREDICCIÓN DE NIVELES PLASMÁTICOS DE
METRONIDAZOL MEDIANTE ESTUDIOS DE DISOLUCIÓN IN-VITRO.

PROYECTO GÉNÉRICO CORRESPONDIENTE:
EVALUACIÓN DE PRODUCTOS RELACIONADOS CON LA SALUD.

ALUMNO: YONATAN JOCEL GÓMEZ VARGAS
MATRÍCULA: 2152030256

ASESORES: M. EN C. JOSÉ RAÚL MEDINA LÓPEZ.
M. EN C. MARCELA HURTADO Y DE LA PEÑA.

LUGAR DE REALIZACIÓN: LABORATORIOS N-107 Y N-012 DE LA UIDIS,
DEPARTAMENTO SISTEMAS BIOLÓGICOS, UAM-XOCHIMILCO.

FECHA DE INICIO: 30 DE JUNIO DEL 2022
FECHA DE TERMINACIÓN: 30 DE DICIEMBRE DE 2022

ENERO 2023

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 2 |
| 2.1 Propiedades físico-químicas | 2 |
| 2.2 Farmacocinética del metronidazol | 3 |
| 2.3 Aspectos generales de la disolución | 4 |
| 2.4 Perfil de disolución en Aparato 1 USP (canastillas) | 5 |
| 2.5 Perfil de disolución en Aparato 4 USP (celda de flujo continuo) | 6 |
| 2.6 Método de convolución | 8 |
| 2.7 Medicamentos genéricos | 9 |
| 3. OBJETIVO GENERAL | 11 |
| 4. OBJETIVOS ESPECIFICOS | 11 |
| 5. DESARROLLO EXPERIMENTAL | 12 |
| 5.1 Productos farmacéuticos en estudio | 12 |
| 5.2 Equipos, Instrumentos, Material y Reactivos | 12 |
| 5.3 Curva de calibración..... | 14 |
| 5.4 Valoración de tabletas de metronidazol | 15 |
| 5.5 Uniformidad de dosis de tabletas de metronidazol..... | 16 |
| 5.6 Medios de disolución..... | 17 |
| 5.7 Perfiles de disolución | 17 |
| 5.7.1 Perfil de disolución en Aparato 1 USP (canastillas)..... | 17 |
| 5.7.2 Cálculos del perfil de disolución en aparato 1 USP (Canastillas) | 20 |
| 5.7.3 Perfil de disolución en Aparato 4 USP (celda de flujo continuo)..... | 21 |
| 5.7.4 Cálculos del perfil de disolución en Aparato 4 USP (celda de flujo continuo)..... | 24 |
| 5.8 Parámetros del modelo-independiente..... | 26 |
| 5.9 Parámetros del modelo-dependiente | 26 |
| 5.10 Método de Convolución..... | 26 |
| 5.10.1 Cálculos de método de convolución | 27 |
| 5.10.2 Evaluación de la previsibilidad del modelo | 28 |
| 6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS | 30 |
| 6.1 Curvas de calibración..... | 30 |

| | | |
|-----|--|----|
| 6.2 | Pruebas de control de calidad..... | 31 |
| 6.3 | Perfiles de disolución en Aparato 1 USP (canastillas) y Aparato 4 USP (celda de flujo continuo) a diferentes pH..... | 33 |
| 6.4 | Parametros de disolución del modelo-independiente..... | 35 |
| 6.5 | Método de modelo-dependiente para el Aparato 1 USP (canastillas)..... | 36 |
| 6.6 | Método de modelo dependiente para el Aparato 4 USP (celda de flujo continuo)..... | 38 |
| 6.7 | Método de convolución en Aparato 1 USP (canastillas)..... | 39 |
| 6.8 | Método de convolución en Aparato 4 USP (celda de flujo continuo)..... | 41 |
| 6.9 | Parametros del método de convolución..... | 42 |
| 7. | OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS | 44 |
| 8. | CONCLUSIONES | 45 |
| 9. | BIBLIOGRAFÍA | 46 |
| 10. | RESUMEN | 52 |
| 11. | ANEXOS | 59 |

1. INTRODUCCIÓN

El metronidazol es un fármaco antimicrobiano indicado en el tratamiento de la tricomoniasis, amebiasis intestinal, giardiasis y en la profilaxis y tratamiento de infecciones anaeróbicas. El metronidazol esta disponible en diferentes formas farmacéuticas y las tabletas es la forma de dosificación más utilizada por las ventajas que tiene para el paciente en el transporte e ingestión de un producto sólido. En general la absorción del metronidazol es buena y presenta una biodisponibilidad mayor al 90 %. Sin embargo, en pacientes se han reportado variaciones en la absorción, casos de bioequivalencia e inefectividad debido a bajos niveles de fármaco en sangre.

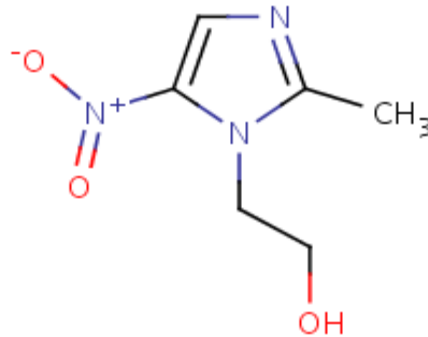
Los estudios de disolución in-vitro son la mejor opción para predecir el desempeño in-vivo de la formulación. Sobre este tema, se han documentado diferencias en la liberación del metronidazol de productos comerciales y aun entre lotes de la misma marca. La prueba oficial de tabletas de metronidazol se encuentra reportada en la farmacopea nacional. Los lineamientos internacionales para evaluar la disolución de formas solidas de dosificación oral sugieren el uso de tres medios de disolución (pH 1.2, 4.5 y 6.8) para documentar el proceso de liberación a lo largo del tracto gastrointestinal.

Por otro lado, procedimientos matemáticos que involucran parámetros farmacocinéticos como vida media ($t_{1/2}$), volumen de distribución (V_d) y biodisponibilidad (F) permiten estimar el perfil de concentración plasmática vs tiempo a partir de datos de disolución in-vitro. Con esta información es posible comparar el desempeño in-vivo estimado con el área bajo la curva de 0 a infinito (ABC_{0-inf}) y concentración plasmática máxima (C_{max}) de un estudio en humanos y escoger las condiciones de disolución que generen una variación o error de predicción (EP) $< 10 \%$ ($EP \% = (\text{parámetro observado} - \text{parámetro estimado}) / \text{parámetro observado} \times 100$). Las condiciones escogidas se convierten en el marco de referencia ideal para comparar los medicamentos genéricos a fin de asegurar una intercambiabilidad eficaz.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Propiedades físico-químicas ^(1,2,3)

Formula desarrollada:



Formula molecular: C₆H₉N₃O₃

Masa molecular: 171.15 g/mol

Punto de fusión: 159 – 160 °C

Solubilidad: Solubilidad en g/100 ml a 20 °C: 1,0 en agua, 0,5 en etanol, menos de 0,05 en éter, cloroformo; soluble en ácidos diluidos; escasamente soluble en dimetilformamida.

Nombre genérico: Metronidazol

Nombre químico: 1-(2-hidroxietyl)-2-metil-5-nitroimidazol

Sinónimos: Flagyl

Descripción: El metronidazol es un polvo cristalino de color blanco a amarillo pálido con un ligero olor. Sabor amargo y salino. pH (solución acuosa saturada) alrededor de 6.5.

Definición: El metronidazol es un agente bactericida derivado del nitroimidazol ampliamente utilizado en el tratamiento de muchas infecciones por anaerobios y ciertas infecciones por protozoos y parásitos. El metronidazol se ha relacionado con casos raros de daño hepático agudo clínicamente aparente.

2.2 Farmacocinética del metronidazol (1, 4, 5, 6, 7)

Absorción

El metronidazol puede ser administrado por vía oral, intravenosa, rectal, vaginal y tópica. En la administración oral el metronidazol tiene una concentración sérica máxima similar a la vía intravenosa aproximadamente en promedio de 10 µg/mL después de una dosis de 500 mg. Después de una dosis oral, la concentración sérica máxima es alcanzada a 1 hora después de la administración. La comida no afecta significativamente la absorción, y la biodisponibilidad de las dosis es aproximadamente de 100%, por lo que es rápidamente absorbido y distribuido en el organismo. ^(8, 9, 10)

Distribución

El metronidazol es ampliamente distribuido en tejidos y fluidos del organismo, esto se debe a que tiene una unión relativamente baja a proteínas plasmáticas (< 20%), el metronidazol ha sido detectado en concentraciones terapéuticas en hueso, tejidos pélvicos, bilis, saliva, fluido seminal, pulmones, riñones, hígado, piel y líquido cefalorraquídeo. El volumen de distribución en estado estable en adultos es de 0.51 a 1.1 L/kg. EL metronidazol alcanza del 60 al 100% de la concentración en plasma en la mayoría de los tejidos estudiados, incluyendo en el sistema nervioso central, pero en bajas concentraciones en tejido placentario. ⁽⁸⁾

Biotransformación

El metronidazol es ampliamente metabolizado por el hígado, en humanos se lleva a cabo por el metabolismo oxidativo, con la formación de 5 metabolitos. De los cuales los metabolitos hidroxilados tienen una actividad biológica de 30 a 60% y una vida media de eliminación más larga que el compuesto original. Las modificaciones que se presentan en la estructura química del metronidazol son sobre las cadenas alifáticas. ^(8, 9)

Eliminación

La mayoría de metronidazol inalterado y sus metabolitos son eliminados por vía renal en la orina. Aproximadamente el 77 y el 14 % de la dosis fue acumulado en la orina y las heces, respectivamente, esto por más de 5 días. De la eliminación el metronidazol inalterado en la orina representa solo del 7 al 12 % de la dosis. Se ha demostrado por

método de cromatografía que el metronidazol inalterado y sus metabolitos excretados por orina representan en promedio del 33 al 44 % de la dosis. La vida media del metronidazol tiene rangos de entre 6 y 10 horas, mientras que el metabolito hidroxí tiene una vida media más larga que va desde 8.5 a 19.2 horas en pacientes con función renal normal. (8, 9)

2.3 Aspectos generales de la disolución (11, 12, 13, 14)

La prueba de disolución, es un método para medir la liberación del principio activo, a partir de la forma de dosificación que lo contiene y la disolución de este, en el medio de prueba. Este método implica de una serie de variables de origen diverso que afectan el patrón del flujo hidrodinámico en la interfaz sólido-líquido, el cual, a su vez, es determinante en la velocidad de disolución y en la obtención de resultados reproducibles de la prueba.

Con el método de disolución se puede obtener información acerca de la seguridad y eficacia de un producto sin tener que hacer pruebas en humanos después de realizar cambios menores en la formulación y el proceso de manufactura. También los estudios de disolución pueden ayudar en la evaluación del control de calidad.

El proceso de disolución está descrito por Noyes y Whitney quienes se basaron en el principio de la teoría de la difusión de Fick, describieron cuantitativamente el proceso de disolución, manteniendo el área superficial constante; lo que permite la disolución del fármaco en el medio acuoso es el gradiente de concentración, definido por la diferencia entre la concentración del fármaco en la solución y la solubilidad del fármaco. Tal como lo describe la ecuación:

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

Donde:

- K_s = es la constante de disolución, con dimensiones 1/tiempo
- C_s = es la solubilidad del compuesto en el equilibrio a la temperatura dada
- C_t = es la concentración del compuesto a tiempo t

De esta manera Nerst y Brunner demostraron que la constante de velocidad estaba relacionada con el área de superficie expuesta y la velocidad de difusión del fármaco a través de una capa límite hidrodinámica en la superficie o película h alrededor de la partícula, mediante la ecuación:

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

Donde:

- dC/dt = es la velocidad de difusión
- S = es el área de la superficie expuesta
- D = coeficiente de difusión molecular del soluto
- V = volumen de disolución
- h = es el espesor de la película de difusión
- $(C_s - C)$ = gradiente de concentración

La superficie expuesta al medio de disolución es un factor que puede modificar la disolución y es afectada por el tamaño de partícula, esto es, entre menor sea el tamaño de partícula, mayor será su área de superficie expuesta, y se presentara en mayor numero, al contrario que con el tamaño de partícula más grande.

2.4 Perfil de disolución en Aparato 1 USP (canastillas) ^(2, 15, 16)

Las pruebas de disolución de formas farmacéuticas sólidas y semisólidas se realizan en generalmente en Aparato 1 o 2 USP. Se han estandarizado procedimientos para muchos estudios en todo el mundo, sin embargo, estos equipos no reproducen el proceso que se lleva a cabo en vivo, ya que el proceso y los factores que lo afectan es muy complejo en el tracto gastrointestinal.

En la farmacopea nacional está indicado el uso del aparato 1 (canastillas) para las tabletas de metronidazol, con un volumen de medio de disolución de 900 mL, en medio ácido HCl 0.1 N pH 1.2, a 37 °C y 100 rpm. En estas condiciones se debería de disolver no menos del 85% de la dosis al tiempo de disolución de 60 min ($Q = 85\%$). ⁽²⁾

Este aparato debe colocarse en una superficie sólida y plana, aislados de toda fuente de vibración. El aparato 1 (canastillas) se compone de:

- Un vaso de vidrio con fondo semiesférico con capacidad para 1000 mL. Cuando está en operación el disolutor el vaso se tapa para evitar la evaporación del medio, además de que se toma la muestra por un conducto.
- Baño maría para controlar la temperatura de los vasos.
- Un regulador de la velocidad de rotación.
- Un eje transmisor de acero inoxidable o vástago, en un soporte que permite conservar su linealidad física, evitando cualquier balanceo.
- En el aparato 1 la tableta se coloca en una canastilla de acero inoxidable conectada al vástago.

La muestra en este caso es tomada manualmente, con jeringas conectadas a una cánula de longitud determinada con filtro que no afecte en la absorción de significativa del principio activo, se utiliza para remover partículas que son insolubles en el medio, para muestras mayor representativas. El análisis de las muestras se llevó a cabo por espectrofotometría UV-VIS.

2.5 Perfil de disolución en Aparato 4 USP (celda de flujo continuo) ^(16, 17, 18, 19, 20)

Adicionalmente se utiliza el Aparato 4 USP (celda de flujo continuo), como una alternativa ya que ha presentado ventajas sobre los Aparatos 1 y 2 USP. El Aparato 4 permite una extracción continua del fármaco, simulando la absorción a la circulación sistémica, ya que se genera un flujo que no se interrumpe del medio de disolución hacia la celda donde se encuentra la tableta a evaluar. ⁽¹⁷⁾ Una de las ventajas más importantes es que el Aparato 4 USP se puede utilizar como sistema abierto para trabajar en condiciones “sink” o bien de no saturación, lo que facilita la disolución de fármacos poco solubles. Una ventaja enorme es que se puede recambiar el medio de disolución a lo largo de la prueba de disolución para un intervalo en el pH. ^(19, 20)

Además, varios autores han reportado una correlación in vitro-in vivo significativa entre los datos obtenidos en el Aparato 4 y el comportamiento humano. Se compone de:

- De un depósito que contiene el medio de disolución, una bomba que empuja hacia arriba a través de la celda de flujo vertical posicionada y un baño de agua.
- La bomba tiene una velocidad de flujo entre 4.8 y 16 ml min⁻¹.
- Normalmente el cono del fondo de la celda de flujo contiene pequeñas esferas de vidrio de 1 mm de diámetro y otras esferas posicionadas por arriba de las primeras de un diámetro de 5 mm para proteger el tubo de entrada de fluido.
- Cuenta con un filtro (más frecuentemente, un filtro de fibra de vidrio) que está colocado en la parte superior interna de la celda.
- Cuenta con dos diferentes celdas de flujo para formas farmacéuticas sólidas, la celda grande de 22.6 mm de diámetro y las pequeñas con 12 mm de diámetro.

La toma de muestra se llevó a cabo con jeringas, el análisis de muestras se llevó a cabo por espectrofotometría UV-VIS.

2.6 Método de convolución (7, 13)

El proceso para obtener el perfil plasmático a partir de los resultados del perfil de disolución es conocido como convolución. Por otra parte, lo opuesto a este proceso es conocido como deconvolución, es decir el proceso para obtener perfiles de disolución a partir de perfiles plasmáticos.

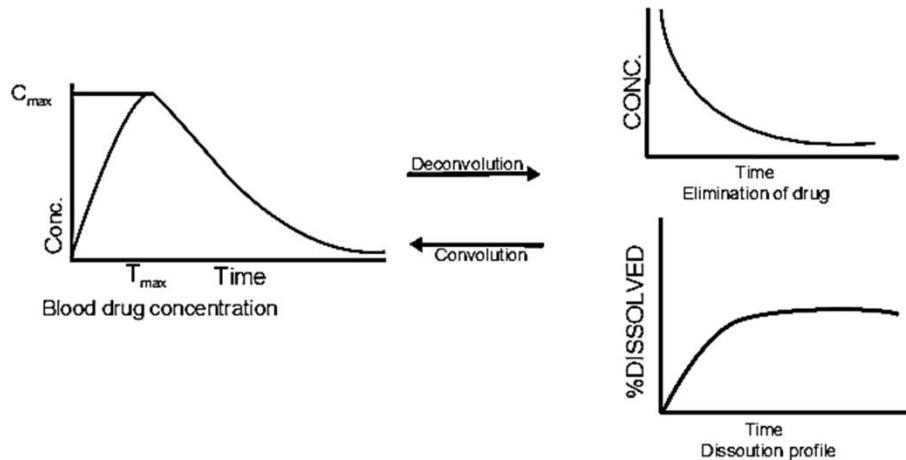


Fig 1. Proceso de deconvolución y convolución. El proceso de deconvolución se obtiene perfiles de disolución a partir de perfiles de plasmáticos, mientras que en la convolución se obtienen perfiles plasmáticos a partir de perfiles de disolución.

La técnica de convolución provee un acercamiento práctico y simple para desarrollar una correlación in vitro-in vivo y la evaluación del producto. Para poder predecir los niveles de fármaco en sangre a partir de los perfiles de disolución es indispensable contar con los parámetros farmacocinéticos del producto de prueba. Estos parámetros se pueden conseguir en un libro sobre farmacología, o en artículos científicos. Estos parámetros son; volumen de distribución en (L/Kg), biodisponibilidad (F), peso del cuerpo en (Kg), vida media de eliminación ($t_{1/2}$) en horas y la constante de velocidad de eliminación (K_e) en (h^{-1}).

Un importante parámetro es el de volumen de distribución, ya que es necesario tener un parámetro de volumen para relacionar la cantidad de fármaco administrada y la concentración observada en (masa/volumen). En la farmacocinética este volumen es un espacio imaginario, el volumen de distribución del fármaco es con frecuencia más grande

que cualquier otro espacio fisiológico, por lo tanto, el concepto de volumen de distribución es descrito como volumen de distribución “aparente” (V_d). Lo que quiere reflejar este concepto es que en el cuerpo hay diferentes depósitos donde incluso grandes cantidades de fármaco se pueden acumular, y por lo tanto no pueden estar disponibles en la sangre, como el tejido adiposo.

Otro parámetro importante a entender es el de biodisponibilidad oral de fármaco. Cuando una cantidad de fármaco es administrada por vía oral, una cantidad de ese fármaco es degradado en el tracto gastro intestinal, por lo que no todo el fármaco va estar disponible en la sangre. Entonces la fracción de fármaco que está disponible en la sangre después de la administración oral es llamada biodisponibilidad oral o absoluta y se representa con la letra “F”, además de que esta es una propiedad del principio activo del fármaco.

Una vez obtenidos los parámetros farmacocinéticos, es momento de evaluar o comparar de perfiles de disolución de manera significativa reflejando los resultados in vivo o la actividad fisiológica. El método de convolución para evaluar los perfiles plasmáticos del fármaco es reconocido por agencias reguladoras en todo el mundo. Para evaluar estos perfiles los parámetros más comunes son la máxima concentración de fármaco observada (C_{max}) y el área bajo la curva de cero a infinito del perfil de concentración plasmática (ABC_{0-inf}).

2.7 Medicamentos genéricos ^(21, 22)

En México de acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) y el reglamento de insumos para la salud un medicamento genérico es aquel que tiene el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración y potencia, que utiliza la misma vía de administración y que las pruebas reglamentarias requeridas, ha comprobado que sus especificaciones farmacopéicas, perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otros parámetros, según sea el caso, son equivalentes a las del medicamento de referencia.

Para establecer la intercambiabilidad de los medicamentos genéricos se deben realizar estudios de biodisponibilidad, bioequivalencia y la comparación de perfiles de disolución, que demuestren que son equivalentes al de referencia.

En la norma oficial mexicana NOM-177-SSA1-2013, se establecen las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable, así como los requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad, los estudios de biocompatibilidad y los que deben sujetarse los terceros autorizados, centros de investigación o instituciones hospitalarias que realicen las pruebas de biocompatibilidad. Esto como requisitos indispensables para los medicamentos genéricos que deban cumplir con pruebas de intercambiabilidad, así como medicamentos biotecnológicos biocomparables que deban cumplir con pruebas de biocompatibilidad. (22)

3. OBJETIVO GENERAL

Predecir el comportamiento in-vivo de formulaciones comerciales de metronidazol mediante tratamiento matemático de resultados de disolución in-vitro.

4. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Realizar estudios de disolución in-vitro de tabletas y/o suspensiones de metronidazol del medicamento de referencia bajo diferentes condiciones.
- Predecir el comportamiento in-vivo de las formulaciones a través de los datos de disolución generados con las pruebas in-vitro. Esto mediante el cálculo del perfil plasmático por la técnica de convolución y la fracción absorbida obtenida con el método de Wagner-Nelson o Loo-Riegelman, dependiendo del caso.

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1 Productos farmacéuticos en estudio

Los productos evaluados en este estudio se adquirieron de la farmacia, se utilizaron sólo comprimidos de 500 mg de metronidazol para la realización de este estudio los cuales se presentan en la Tabla 1. En México el medicamento de referencia en esta presentación corresponde al Flagyl, el cual permanece en el listado de medicamentos de referencia emitido por la COFEPRIS (enero, 2022).

Tabla 1. Productos farmacéuticos en estudio comerciales de 500 mg de metronidazol en presentación de comprimidos de referencia.

| Producto | Denominación Distintiva | Registro Sanitario | Titular | Lote | Caducidad |
|------------|-------------------------|--------------------|---------------------------------------|---------|----------------|
| Referencia | Flagyl | 55754 SSA | SANOFI-AVENTIS DE MÉXICO S.A. DE C.V. | BMXA015 | Junio 2023 |
| Referencia | Flagyl | 55754 SSA | SANOFI-AVENTIS DE MÉXICO S.A. DE C.V. | CMXA001 | Noviembre 2023 |
| Referencia | Flagyl | 55754 SSA | SANOFI-AVENTIS DE MÉXICO S.A. DE C.V. | CMXA003 | Noviembre 2023 |

5.2 Equipos, Instrumentos, Material y Reactivos

Equipos

- Baño de ultrasonido
- Disolutor, marca Sotax AT-7 (Aparato 1 USP)
- Disolutor, marca Sotax CE6 (Aparato 4 USP)
- Parrilla de agitación magnética
- Sistema para desgasificar
- Sonicador

Instrumentos

- Balanza analítica
- Cronometro
- Espectrofotómetro UV-Vis, marca PerkinElmer Lambda 10
- Micropipeta de 10 a 1000 μL
- Potenciómetro

Material

- Celdas de cuarzo de 1 cm de espesor
- Cánulas
- Espátula
- Filtros de nitrocelulosa
- Filtros para cánula
- Gradilla
- Jeringas de plástico graduadas en mL, capacidad de 5 mL
- Matraces volumétricos de 5 mL, 10 mL, 100 mL, 1000 mL y 2000 mL
- Pizeta
- Probetas de vidrio de 10 mL, 50 mL y 1000 mL
- Puntas para micropipeta de 1000 μL
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm
- Vaso de precipitados de 5 mL, 10 mL, 50 mL, 100 mL, 500 mL, 1000 mL y 2000 mL

Reactivos

- Acetato de sodio trihidratado, J.T. Baker
- Ácido acético glacial, marca J.T. Baker
- Ácido clorhídrico, marca J.T. Baker
- Ácido fosfórico concentrado, marca J.T. Baker
- Agua destilada
- Fosfato monobásico de potasio, marca MEYER

- Fosfato dibásico de sodio, marca MEYER
- Hidróxido de sodio, marca MEYER

Sustancia de referencia

- Estándar de metronidazol
Marca: Sigma Aldrich

5.3 Curva de calibración

Se pesan 10 mg de estándar de metronidazol en la balanza analítica y se pasan a un matraz aforado de 10 mL y se agrega un poco de medio de disolución, después se lleva al sonicador por 10 min para una mejor disolución del metronidazol, una vez terminado el tiempo se afora con el medio que se esté ocupando, ya sea con el medio ácido con HCl 0.1 N pH 1.2, el medio de acetatos pH 4.5 o el medio de fosfatos pH 6.8, y se homogeniza, en este matraz tendremos una concentración teórica de 1 mg/mL.

De este matraz tomamos una serie de alícuotas de 100 μ L, 150 μ L, 200 μ L, 300 μ L y 350 μ L, para poner cada alícuota en un respectivo matraz de 10 mL después se procede a aforar y homogenizar los 5 matraces. Así tendremos 5 soluciones con concentraciones teóricas de: 10, 15, 20, 30 y 35 μ g/mL Tabla 2. El procedimiento es el mismo para todos los medios de disolución utilizados.

Se termina la absorbancia de las soluciones en el espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 278 nm. Se lee primero el BLANCO (medio) y posteriormente las soluciones. Para cada curva de calibración se calculó la pendiente (m), ordenada al origen (b), coeficiente de correlación (r) y coeficiente de correlación (r^2).

Tabla 2. Preparación de curvas de calibración de metronidazol

| Solución No. | Alícuota (µL) de solución 1 mg/mL | Aforo (mL) | Concentración (µg/mL) |
|--------------|-----------------------------------|------------|-----------------------|
| 1 | 100 | 10 | 10 |
| 2 | 150 | 10 | 15 |
| 3 | 200 | 10 | 20 |
| 4 | 300 | 10 | 30 |
| 5 | 350 | 10 | 35 |

Criterio de aceptación

El coeficiente de correlación (r^2) debe ser mayor o igual a 0.99 y el (%) de coeficiente de variación no mayor al 2%.

5.4 Valoración de tabletas de metronidazol

Procedimiento: Se utilizaron 5 tabletas de metronidazol del lote CMXA001 con fecha de caducidad de noviembre del 2023.

Se pesaron las 5 tabletas y se obtuvo el peso promedio. Después se molieron en un mortero con pistilo para pesar el en polvo el peso promedio de cada tableta 3 veces (n=3).

Se pusieron las muestras en agitación magnética en 500 mL de medio HCl 0.1 N cada una, para después tomar una muestra de 3 mL a los 60 (min).

De los 3 mL de cada muestra se tomaron 2 mL y se llevaron un matraz de 100 mL, cada matraz se llevó a volumen con medio pH 1.2 y se homogenizo.

Se leyeron las muestras en un espectrofotómetro UV-VIS a 278 nm. Las absorbancias obtenidas se interpolan en la curva de calibración.

- Cantidad disuelta en mg

Para calcular la cantidad en mg disuelta en cada intervalo de tiempo se utiliza el siguiente factor:

$$(valor\ interpolado\ (\mu g/mL)) \times (aforo\ mL) / (alicuota\ mL) \times (volumen\ del\ vaso\ mL) / (1000)$$

- Porcentaje disuelto

Se utilizo el siguiente factor para obtener el porcentaje disuelto:

$$\frac{(cantidad\ disuelta\ mg)}{(Dosis\ mg)} \times 100$$

Criterio de aceptación

En la monografía de tabletas de metronidazol en la FEUM, se establece que las tabletas contienen no menos del 90.0% y no más de 110% de la cantidad de metronidazol (C₆H₉N₃O₃), indicada en el marbete.

5.5 Uniformidad de dosis de tabletas de metronidazol

Procedimiento: Se utilizaron 10 tabletas de metronidazol del lote CMXA003 con fecha de caducidad de noviembre del 2023.

Se colocaron las tabletas en agitación magnética en 500 mL de medio HCl 0.1 N cada una, para después tomar una muestra de 3 mL a los 60 (min).

De los 3 mL de cada muestra se tomaron 2 mL y se llevaron un matraz de 100 mL, cada matraz se llevó a volumen con medio pH 1.2 y se homogenizo.

Se determinaron las absorbancias de las muestras en un espectrofotómetro UV-VIS a 278 nm. Las absorbancias obtenidas se interpolan en la curva de calibración.

- Cantidad disuelta en mg

Para calcular la cantidad en mg disuelta en cada intervalo de tiempo se utiliza el siguiente factor:

$$(valor\ interpolado\ (\mu g/mL)) \times (aforo\ mL) / (aliquota\ mL) \times (volumen\ del\ vaso\ mL) / (1000)$$

- Porcentaje disuelto

Se utilizo el siguiente factor para obtener el porcentaje disuelto:

$$\frac{(cantidad\ disuelta\ mg)}{(Dosis\ mg)} \times 100$$

Criterio de aceptación:

En la monografía de tabletas de metronidazol en la FEUM, se establece que las tabletas contienen no menos del 90.0 % y no más de 110 % de la cantidad de $C_6H_9N_3O_3$, indicada en el marbete.

5.6 Medios de disolución

Preparación de soluciones amortiguadoras, se preparó el volumen necesario, en este caso se prepararon 7 L por disolución.

Solución amortiguadora de ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N pH 1.2 para un litro

En un matraz volumétrico de 1000 mL, agregar 300 mL de agua destilada, después agregar 8.33 mL de ácido clorhídrico; homogenizar lentamente y después llevarlo a volumen con agua destilada para homogenizar.

Solución amortiguadora de acetato de sodio trihidratado-ácido acético 2 N pH 4.5 para un litro

En un matraz volumétrico de 1000 mL, disolver 2.99 mg de acetato de sodio trihidratado, en 300 mL de agua; agregar 14 mL de solución de ácido acético 2.0 N. Llevar a volumen con agua destilada

Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 para un litro

Pesar 3.4 g de fosfato monobásico de potasio y pesar 3.55 g de fosfato dibásico de sodio; disolver en agua destilada, una vez disueltas las sales, se agregan a un matraz volumétrico de 1000 mL y se lleva a volumen con agua destilada para homogenizar.

5.7 Perfiles de disolución

5.7.1 Perfil de disolución en Aparato 1 USP (canastillas)

Se utilizaron tabletas de metronidazol de 500 mg del medicamento de referencia. Los estudios de disolución se llevaron a cabo de acuerdo con las condiciones oficiales en el Aparato 1 USP, modelo Sotax AT7-Smart (canastillas) a 100 rpm con 900 ml de HCl 0.1 N y también se utilizaron soluciones amortiguadoras de pH 4.5 y 6.8, todas las condiciones para llevar a cabo el perfil se muestran en la Tabla 3.

La determinación de la cantidad de metronidazol disuelto se realizó empleando las condiciones analíticas que se indican en la Tabla 4.

Tabla 3. Condiciones empleadas para llevar a cabo los perfiles de disolución para el Aparato 1 USP productos de referencia comerciales con contenido de 500 mg de metronidazol en presentación de comprimidos.

| | |
|-------------------------------|--|
| Aparato de disolución | Aparato 1 USP, Modelo Sotax AT7-Smart (canastillas) |
| Medio de disolución | Solución amortiguadora de ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N, pH 1.2 Solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 |
| Volumen del medio | 900 mL |
| Velocidad de agitación | 100 rpm |
| Temperatura | 37 °C ± 0.5 °C |
| Número de tabletas | 12 tabletas (6 tabletas por cada disolución) |
| Tiempos de muestreo | 10, 20, 30, 45 y 60 minutos |
| Volumen de la muestra | 2 mL |
| Toma de la muestra | Manual, con jeringa graduada de 5 mL ajustada a una cánula con filtro. |
| Volumen de la alícuota | 400 µL |
| Volumen del aforo | 10 mL |
| Reposición de medio | No |

Tabla 4. Condiciones analíticas para la cuantificación de metronidazol disuelto.

| | |
|--------------------------|---|
| Método | Espectrofotométrico |
| Espectrofotómetro | PerkinEkmer Modelo Lambda 10 |
| Longitud de onda | 278 nm |
| Celda | Cuarzo, 1 cm de espesor |
| Blanco de ajuste | Medios de disolución pH 1.2, pH 4.5 y pH 6.8 |

Procedimiento

- 1) Preparar el volumen de solución amortiguadora necesaria y se ajusta a pH con el potenciómetro, ya sea de solución amortiguadora de ácido clorhídrico HCl 0.1 N, de acetatos pH 4.5 o fosfatos pH 6.8, tal cual como se describe en el apartado 5.6. El medio de disolución se le eliminó el gas disuelto con filtración al vacío con el sistema para desgasificar por lo menos 5 veces.
- 2) Se prende el disolutor y se ajusta el baño a una temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, por lo menos 30 min antes de iniciar la disolución.
- 3) Montar los sujetadores de las canastillas en los vástagos del disolutor.
- 4) Medir el volumen de medio de disolución del garrafón con un vaso de precipitados de 1000 mL y después medir exactamente 900 mL de este medio en una probeta graduada de 1000 mL, posteriormente transferir este volumen a los vasos del disolutor evitando la generación de burbujas. Colocar los vasos en la posición correspondiente en el disolutor, y fijarlos con los sujetadores.
- 5) Dejar que los vasos alcancen una temperatura $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 6) Preparar el material para la toma de muestra, adaptando la jeringa graduada de 5 mL a una cánula con filtro, rotulando cada jeringa del 1 al 6.
- 7) Colocar una tableta por cada canastilla y ajustándola correctamente a cada vástago del disolutor y subir los cabezales del disolutor. (Recordando que son 6 tabletas por cada disolución).
- 8) Establecer la velocidad de agitación. Para este punto la temperatura de los vasos tiene que estar en $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- 9) Bajar el cabezal del equipo de disolución, cerrar bien el equipo, iniciar la disolución al mismo tiempo que se inicia el cronometro para las tomas de muestra.
- 10) Tomar las muestras de 2 mL en los intervalos de tiempo correspondientes, y colocarlas en tubos de ensayo de 13 x 100 mm. Realizar la disolución correspondiente con ayuda de la micropipeta de 10 – 1000 μ L.
- 11) Aforar las diluciones a un volumen de 10 mL, durante los intervalos de la disolución.
- 12) Una vez terminada la disolución, lavar y limpiar bien todos los componentes del disolutor, y anotarse en la bitácora.
- 13) Obtener la absorbancia de las muestras, utilizando como blanco el medio de disolución.
- 14) Preparar la curva de calibración con el estándar de metronidazol como se indica en el apartado 5.3 en el cual se extrapolan las absorbancias para obtener las concentraciones de metronidazol obtenidas de las muestras de disolución.
- 15) Realizar los cálculos correspondientes para obtener los porcentajes de disolución con un total de 12 tabletas por disolución. Calculando el porcentaje disuelto considerando las diluciones realizadas y el volumen de medio de disolución para cada tiempo.

5.7.2 Cálculos del perfil de disolución en Aparato 1 USP (Canastillas)

Procedimiento

Después de determinar la absorbancia de las muestras en el espectrofotómetro UV-VIS, se extrapolan en la curva de calibración con ayuda de la ecuación de la línea recta, los resultados obtenidos estarán en μ g/mL.

- Cantidad acumulada en mg

Primero se deben calcular los mg/mL acumulados del volumen de muestra que se está tomando en cada intervalo de tiempo, que en este caso se están tomando 2 mL de muestra. Con los datos interpolados en la curva de calibración se utiliza el siguiente factor para obtener la cantidad acumulada:

$$(\text{valor extrapolado } (\mu\text{g/mL})) \times (\text{aforo mL}) / (\text{aliquota mL}) \times (\text{muestra mL}) / (1000)$$

Se deben calcular la cantidad acumulada de cada muestra tomada, ya que estas cantidades se irán sumando en cada intervalo de tiempo.

- Cantidad disuelta en mg

Para calcular la cantidad en mg disuelta en cada intervalo de tiempo se utiliza el siguiente factor:

$$(\text{valor interpolado } (\mu\text{g/mL})) \times (\text{aforo mL}) / (\text{aliquota mL}) \times (\text{volumen del vaso mL}) / (1000)$$

Una vez obtenida la cantidad disuelta en (mg) de cada intervalo de tiempo, es importante sumar los (mg) acumulados de las muestras tomadas para obtener la cantidad en (mg) real.

- Porcentaje disuelto

Se utilizo el siguiente factor para obtener el porcentaje disuelto:

$$\frac{(\text{cantidad disuelta mg})}{(\text{Dosis mg})} \times 100$$

Criterio de aceptación

- 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 de muestreo subsecuentes.

5.7.3 Perfil de disolución en Aparato 4 USP (celda de flujo continuo)

Adicionalmente se utilizó el aparato de celda de flujo continuo (Aparato 4 USP, modelo Sotax CE6), con celdas de 22.6 mm y los mismos medios de disolución a 16 ml/min, al igual que los mismos productos de referencia comerciales con contenido de 500 mg de metronidazol. Todas las condiciones para llevar a cabo el perfil se muestran en la Tabla 5.

La determinación de la cantidad de metronidazol disuelto se realizó empleando las condiciones analíticas que se indican en la Tabla 7.

Tabla 5. Condiciones empleadas para llevar a cabo los perfiles de disolución para el Aparato 4 USP (celda de flujo continuo) de productos de referencia comerciales con contenido de 500 mg de metronidazol en presentación de comprimidos.

| | |
|---|--|
| Aparato de disolución | Aparato 4 USP, Modelo Sotax CE6 (celda de flujo continuo) |
| Medio de disolución | Solución amortiguadora de ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N, pH 1.2 Solución amortiguadora de acetatos pH 4.5 Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 |
| Volumen del medio | 900 mL |
| Velocidad de agitación | Parrilla de agitación magnética |
| Temperatura | 37 °C ± 0.5 °C |
| Número de tabletas | 12 tabletas (6 tabletas por cada disolución) |
| Velocidad de flujo | 16 mL/min |
| Filtro | Papel filtro de celulosa |
| Tiempos de muestreo | 10, 20, 30, 45 y 60 minutos |
| Volumen de alícuota para cada tiempo de muestreo | 60 µL, 120 µL, 180 µL, 270 µL, y 360 µL |
| Volumen de la muestra | 2 mL |
| Toma de la muestra | Manual, con jeringa graduada de 5 mL |
| Volumen del aforo | 10 mL |
| Reposición de medio | No |

Tabla 6. Condiciones analíticas para la cuantificación de metronidazol disuelto.

| | |
|--------------------------|---|
| Método | Espectrofotométrico |
| Espectrofotómetro | PerkinEkmer Modelo Lambda 10 |
| Longitud de onda | 278 nm |
| Celda | Cuarzo, 1 cm de espesor |
| Blanco de ajuste | Medios de disolución pH 1.2, pH 4.5 y pH 6.8 |

Procedimiento

- 1) Preparar el volumen de solución amortiguadora necesaria y se ajusta a pH con el potenciómetro, ya sea de solución amortiguadora de HCl 0.1 N, de acetatos pH 4.5 o fosfatos pH 6.8, tal cual como se describe en el apartado 5.6. El medio de disolución se le eliminó el gas disuelto con filtración al vacío con el sistema para desgasificar por lo menos 5 veces.
- 2) Se prende el disolutor y se ajusta el baño a él volumen correcto y a una temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, por lo menos 30 min antes de iniciar la disolución.
- 3) Desmontar las celdas de 22.6 mm del disolutor para poder agregar las perlas rojas y luego las perlas transparentes cuidadosamente.
- 4) Poner los filtros de celulosa en los cabezales de las celdas y posteriormente poner los tapones.
- 5) Montar de nuevo el equipo de disolución, observando el orden correcto de la numeración de las mangueras.
- 6) Purgar el disolutor con agua destilada, para quitar el aire de las mangueras. Dejar que todas las mangueras tengan el mismo flujo constante.
- 7) Medir la velocidad de flujo en mL/min de cada manguera.
- 8) Hacer pasar por lo menos 10 min de medio de disolución por el equipo para asegurarse de quitar toda el agua que se utilizó cuando se purgo.
- 9) Colocar una tableta por cada celda del disolutor rápidamente, al mismo tiempo que se inicia la disolución y se empieza a tomar el tiempo con el cronometro.
- 10) Se tomaron muestras del medio a los 10, 20, 30, 45 y 60 min después de agregar las tabletas a los vasos de disolución.

- 11) Preparar el material para la toma de muestra, rotulando cada jeringa del 1 al 6.
- 12) Tomar las muestras de 2 mL en los intervalos de tiempo correspondientes, y colocarlas en tubos de ensayo de 13 x 100 mm. Realizar la disolución correspondiente con ayuda de la micropipeta de 10 – 1000 μ L.
- 13) Aforar las diluciones a un volumen de 10 mL, durante los intervalos de la disolución.
- 14) Una vez terminada la disolución, lavar y limpiar bien todos los componentes del disolutor.
- 15) Recuperar todas perlas rojas y transparentes utilizadas, lavarlas con cuidado, y ponerlas a secar al vacío.
- 16) Obtener la absorbancia de las muestras, utilizando como blanco el medio de disolución.
- 17) Preparar la curva de calibración con el estándar de metronidazol como se indica en el apartado 5.3, en el cual se extrapolan las absorbancias para obtener las concentraciones de metronidazol obtenidas de las muestras de disolución.
- 18) Realizar los cálculos correspondientes para obtener los porcentajes de disolución con un total de 12 tabletas por disolución. Calculando el porcentaje disuelto considerando las diluciones realizadas, el volumen de medio de disolución para cada tiempo y la velocidad de flujo de las mangueras del disolutor.

5.7.4 Cálculos del perfil de disolución en Aparato 4 USP (celda de flujo continuo)

Procedimiento

Primero es importante medir la velocidad de flujo por minuto de las mangueras en el Aparato 4, que en promedio es de 16 mL/min.

De acuerdo con nuestra curva de calibración tenemos una concentración de 10 a 35 μ g/mL, entonces tenemos que tomar alícuotas en los intervalos de tiempo de modo que el volumen que estemos tomando entre dentro de nuestra curva de calibración, así se propone un volumen de alícuota adecuado, en este caso se tomaron alícuotas de 60, 120, 180, 270 y 360 μ L para cada intervalo de tiempo de muestreo respectivamente esto es 60 μ L a los 10 min, 120 μ L a los 20 min, 180 μ L a los 30 min, 270 μ L a los 45 min y 360 μ L a los 60 min. Estas muestras se llevan a un matraz de 10 mL, se homogenizan y

se leen en el espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 278 nm para obtener la absorbancia.

El factor para determinar si los volúmenes tomados son correctos y entran dentro de nuestra curva de calibración es el siguiente:

$$(Dosis (mg)) / \left(\text{promedio de la velocidad de flujo} \left(\frac{mL}{min} \right) \times \text{tiempo de muestreo (min)} \right) \times (\text{alícuota (mL)} \times \text{aforo (mL)} \times 1000)$$

En este caso para cada volumen de alícuota tomado tiene que entra dentro de la curva de calibración.

- Procedimiento para calcular los porcentajes de disolución

Después de leer las muestras en el espectrofotómetro UV-VIS, las absorbancias obtenidas se extrapolan en la curva de calibración con ayuda de la ecuación de la línea recta, los resultados obtenidos estarán en $\mu\text{g/mL}$.

- Cantidad acumulada en mg

Primero se deben calcular los mg/mL acumulados del volumen de muestra que se está tomando en cada intervalo de tiempo, que en este caso se están tomando 2 mL de muestra. Con los datos interpolados en la curva de calibración se utiliza el siguiente factor para obtener la cantidad acumulada:

$$(\text{valor interpolado } (\mu\text{g/mL})) \times (\text{aforo mL}) / (\text{alícuota mL}) \times (\text{muestra mL}) / (1000)$$

Se deben calcular la cantidad acumulada de cada muestra tomada, ya que estas cantidades se irán sumando en cada intervalo de tiempo.

- Cantidad disuelta en mg

Para calcular la cantidad en mg disuelta en cada intervalo de tiempo se utiliza el siguiente factor donde interviene la velocidad de flujo de cada manguera del disolutor:

$$(\text{valor interpolado } (\mu\text{g/mL})) \times (\text{aforo mL}) / (\text{alícuota mL}) \times (\text{velocidad de flujo} \left(\frac{mL}{min} \right) \times \text{tiempo de muestreo min}) / (1000)$$

una vez obtenida la cantidad disuelta en (mg) de cada intervalo de tiempo, es importante sumar los (mg) acumulados de las muestras tomadas para obtener la cantidad en (mg) real.

- Porcentaje disuelto

Se utilizó el siguiente factor para obtener el porcentaje disuelto:

$$\frac{(\text{cantidad disuelta mg})}{(\text{Dosis mg})} \times 100$$

Criterio de aceptación

- 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 de muestreo subsecuentes.

5.8 Parámetros del modelo-independiente

Se calcularon los parámetros del modelo-independiente con los datos de los perfiles de disolución en Aparato 1 USP y Aparato 4 USP, los cuales son la Eficacia de la Disolución (ED), Tiempo Medio de Disolución (TMD), así como el $t_{50\%}$.

El análisis de los resultados se obtuvo utilizando el programa DDSolver de Excel.

5.9 Parámetros del modelo-dependiente

Parámetros de disolución calculados con método del modelo dependiente; con el fin de evaluar la cinética del proceso de liberación de las tabletas de Metronidazol de referencia, los datos de disolución se ajustaron a diferentes modelos cinéticos: de orden cero, primer orden, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell, Makoid-Banakar y Weibull. El modelo con el valor de coeficiente de determinación más alto (r^2 ajustado) y el mínimo valor de Criterio de Información de Akaike (AIC) se eligió como el mejor modelo de ajuste.

El análisis de los resultados se obtuvo utilizando el programa DDSolver de Excel.

5.10 Método de Convulación

Con los resultados obtenidos en los estudios de disolución se estimaron los perfiles plasmáticos por el método de convolución descrito anteriormente en la literatura ⁽¹⁷⁾. Los

parámetros farmacocinéticos para llevar a cabo los cálculos de convolución se obtuvieron de literatura publicada sobre el metronidazol,⁽²⁵⁾ los valores se describen en la Tabla 7.

Se calcularon los parámetros C_{\max} y $ABC_{0-\text{inf}}$, ajustando los cálculos a modelo de dos compartimentos con ayuda del complemento de PKsolver en el Software de Excel. Estos valores se compararon con los reportados en un estudio de biodisponibilidad.

Tabla 7. Parámetros farmacocinéticos de metronidazol publicados en la literatura

| Datos farmacocinéticos | |
|--|----------|
| Biodisponibilidad (F) | 0.99 |
| Volumen de distribución en (L/kg) | 1.1 |
| Peso del cuerpo en (kg) | 60 |
| Vida media de eliminación ($t_{1/2}$) en (hrs) | 8 |
| Formula de constante de velocidad de eliminación (k_e) en (h^{-1}) $K_e = (0.693/t_{1/2})$ | |
| Constante de velocidad de eliminación (K_e) en (h^{-1}) | 0.086625 |
| Concentración sérica máxima C_{\max} en ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | 8.5 |
| Área bajo la curva $ABC_{0-\text{inf}}$ en ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$) | 82.7 |

5.10.1 Cálculos de método de convolución

Método para la conversión de datos de disolución in vitro en perfil de concentración en sangre in vivo.

Se basa en los pasos descritos anteriormente en la literatura ⁽⁷⁾:

- 1) Los datos de los perfiles de disolución de liberación de fármaco de metronidazol obtenidos de la prueba de disolución se convirtieron en cantidades en (mg) dentro de los intervalos de cada tiempo de muestreo, con la siguiente formula:

$$\frac{(\% \text{ Disolución dentro de los intervalos de tiempo}) \times (\text{Dosis (mg)})}{100}$$

- 2) Se procede a calcular los (mg) de fármaco después de la absorción, pero dado que después de la absorción del fármaco, la fase de eliminación comienza con una cinética de primer orden, por lo que la cantidad de fármaco eliminada con el tiempo se tiene que calcular también para conocer la cantidad real en (mg) en sangre después de la absorción. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular lo (mg) de fármaco para cada segmento de cada cantidad, teniendo en cuenta los (mg) de fármaco que están siendo eliminados.

$$(\text{Cantidad predicha (mg)}) - (t_2 - t_1) \times (k_e) \times (\text{cantidad predicha (mg)})$$

La cantidad predicha es la cantidad de fármaco en la sangre en cada intervalo de tiempo (t_1 y t_2) y k_e es la constante de velocidad de eliminación de primer orden.

- 3) La cantidad total de fármaco presente en la sangre en diferentes momentos se calculó sumando todas las cantidades de fármaco calculadas para cada momento.
- 4) El último paso fue calcular la concentración sanguínea del fármaco en ($\mu\text{g/mL}$) de cada tiempo. Esto proporcionará los perfiles de nivel en sangre esperados. Esto se hizo dividiendo la cantidad de sangre en cada momento por el volumen de distribución y el peso corporal promedio.

$$\begin{aligned} & \text{Concentración pronosticada } (\mu\text{g/mL}) \text{ de cada tiempo} \\ & = (\text{Cantidad total en sangre prevista (mg)} \times (F)) / (V_d \text{ (L)} \times \left(\frac{1000}{1000}\right)) \end{aligned}$$

Donde F es la biodisponibilidad, el Volumen de distribución (V_d) está en litros y $\left(\frac{1000}{1000}\right)$ es el factor de conversión para reportar la concentración en $\mu\text{g/mL}$.

5.10.2 Evaluación de la previsibilidad del modelo

EL porcentaje de error de predicción (% PE) para C_{\max} y $ABC_{0-\text{inf}}$ pueden ser determinados por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Error de predicción} = \frac{\text{parámetro observado} - \text{parámetro predicho}}{\text{Parámetro observado}} \times 100$$

Criterio de aceptación

Un valor del 10% o menos confirma la predictibilidad del modelo. Un valor entre 10% y 20% sugiere una predictibilidad no concluyente y requiere datos adicionales. Un error de predicción porcentual superior al 20 % es indicativo de predictibilidad inadecuada o falta de la misma.

Las operaciones se realizaron en usando el Software de Excel (Microsoft, Seattle, WA).

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1 Curvas de calibración

Como se mencionó anteriormente se trabajó con diferentes medios de disolución a diferentes pH por lo que se obtuvieron una serie de curvas de calibración para los diferentes aparatos. Se presentan a continuación:

La Tabla 8 muestra los datos de las curvas de calibración realizadas en medio ácido a un pH de 1.2, este medio se utiliza para hacer la prueba de disolución de acuerdo a la FEUM, en la Tabla 8 se muestra los resultados globales de 4 curvas de calibración promedio, desviación estándar y el (%) de coeficiente de variación.

En la Figura 2 se puede observar los resultados del sistema analítico para cuantificar metronidazol, como se mencionó el medio de disolución corresponde al farmacopeico con pH 1.2, el cual presento una respuesta directamente proporcional a la concentración de metronidazol, presentando linealidad con un coeficiente de correlación (r^2) promedio de 0.9995, por lo que el intervalo de concentraciones para la curva de calibración es correcto. Además, se pueden observar que los (%) de coeficiente de variación son menores al 2%, lo que nos dice que el método para cuantificar metronidazol es preciso.

Los resultados de las curvas para los medios de acetatos pH 4.5 y el medio de fosfatos pH 6.8 se encuentran en el anexo 1. Recordando que estas condiciones se utilizaron para tener un mejor panorama de cómo se disuelve el metronidazol a lo largo del tracto gastrointestinal.

Tabla 8. Datos de curvas de calibración pH 1.2

| Concentración Promedio (\bar{x}) ($\mu\text{g/mL}$) | Absorbancias | | | | Promedio (\bar{x}) Absorbancias | DE | (% CV) |
|---|--------------|-------|-------|-------|-------------------------------------|-------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | | | |
| 10.23 | 0.410 | 0.410 | 0.409 | 0.409 | 0.410 | 0.001 | 0.14 |
| 15.34 | 0.574 | 0.576 | 0.573 | 0.573 | 0.574 | 0.001 | 0.25 |
| 20.45 | 0.763 | 0.762 | 0.761 | 0.761 | 0.762 | 0.001 | 0.13 |
| 30.68 | 1.140 | 1.138 | 1.138 | 1.138 | 1.139 | 0.001 | 0.09 |
| 35.79 | 1.338 | 1.341 | 1.335 | 1.337 | 1.338 | 0.003 | 0.19 |

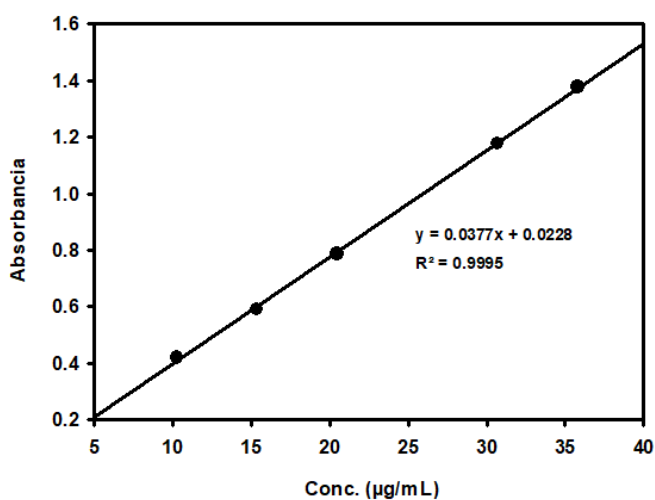


Fig 2. Curva de calibración en pH 1.2 con ecuación y r^2 . Media \pm DE.

6.2 Pruebas de control de calidad

Para analizar el control de calidad de las tabletas de metronidazol se desarrollaron dos pruebas, la de valoración (molido) y uniformidad de dosis. Los resultados de las dos pruebas se observan en la tabla 9, incluyendo el criterio de aceptación.

En cuanto a la valoración (molido $n=3$) de las tabletas de metronidazol de referencia conteniendo una dosis de 500 mg, se obtuvo un resultado satisfactorio, ya que los

porcentajes de disolución se encuentran dentro del criterio de aceptación establecido por la FEUM, el cual menciona que las tabletas contienen no menos del 90.0% y no más de 110% del principio activo indicado en el marbete.

En cuanto a la prueba de uniformidad de dosis (n = 10), se puede observar que los porcentajes disueltos entran dentro de las especificaciones de la FEUM, por lo que se cumple con el criterio de aceptación de contenido de metronidazol de 90.0% a 110% de principio activo. Además, cumple con el criterio de (%) de coeficiente de variación, ya que es menor al 6%.

Tabla 9. Resultados de pruebas de control de calidad para productos de referencia comerciales con contenido de 500 mg de metronidazol en presentación de comprimidos.

| Parámetro | Valores de % disuelto | Criterio de aceptación |
|--|--|--------------------------------------|
| Valoración (Molido) n = 3 | 99.11 99.81 100.50 | Contenido de Metronidazol: 90 – 110% |
| Uniformidad de dosis n = 10 | 104.01 104.29 104.29 104.71 104.29 104.71 104.57 104.15 103.87 104.71 | Contenido de Metronidazol: 90 – 110% |
| % CV | 0.29 | CV ≤ 6% |

6.3 Perfiles de disolución en Aparato 1 USP (canastillas) y Aparato 4 USP (celda de flujo continuo) a diferentes pH

Para llevar a cabo los perfiles de disolución de las tabletas de metronidazol de 500 mg se emplearon diferentes aparatos, para el Aparato 1 USP utilizaron 900 mL de medio a 100 rpm a 37 °C y en medio ácido con pH 1.2 tal como lo indica la FEUM. Además, se utilizaron los medios a pH 4.5 y 6.8 para evaluar la disolución del metronidazol a lo largo del tracto gastrointestinal. Los perfiles con el Aparato 4 USP se utilizaron, ya que este aparato asemeja mejor las condiciones del tracto gastrointestinal y se evaluó con los mismos medios de disolución

En la Tabla 10 se encuentran los resultados del porcentaje promedio disuelto y el porcentaje de coeficiente de variación de los perfiles de disolución en los diferentes aparatos y condiciones de pH, la representación en graficas de estos resultados se muestra en la Figura 3.

Tabla 10. Porcentaje disuelto y coeficiente de variación de tabletas con contenido de 500 mg de metronidazol, en aparato 1 y 4 USP en diferentes pH.

| Aparato | Medio | Parámetros | Tiempo (min) | | | | |
|---------------|--------|--------------|--------------|-------|-------|-------|-------|
| | | | 10 | 20 | 30 | 45 | 60 |
| Aparato 1 USP | pH 1.2 | (%) Disuelto | 29.56 | 54.17 | 78.63 | 96.63 | 98.78 |
| | | (%) CV | 6.62 | 6.23 | 3.44 | 3.45 | 2.99 |
| | pH 4.5 | (%) Disuelto | 17.67 | 30.03 | 45.26 | 65.64 | 86.52 |
| | | (%) CV | 21.19 | 10.85 | 6.69 | 5.82 | 4.85 |
| | pH 6.8 | (%) Disuelto | 16.79 | 29.49 | 41.74 | 57.53 | 74.93 |
| | | (%) CV | 11.07 | 8.74 | 4.52 | 3.32 | 2.52 |
| Aparato 4 USP | pH 1.2 | (%) Disuelto | 10.17 | 25.74 | 39.49 | 61.56 | 81.13 |
| | | (%) CV | 13.18 | 12.98 | 6.10 | 4.59 | 4.88 |
| | pH 4.5 | (%) Disuelto | 7.97 | 15.54 | 23.72 | 34.79 | 48.00 |
| | | (%) CV | 20.02 | 5.38 | 7.45 | 7.83 | 9.78 |
| | pH 6.8 | (%) Disuelto | 3.43 | 10.23 | 17.83 | 27.88 | 37.15 |
| | | (%) CV | 35.64 | 18.97 | 11.74 | 10.29 | 6.72 |

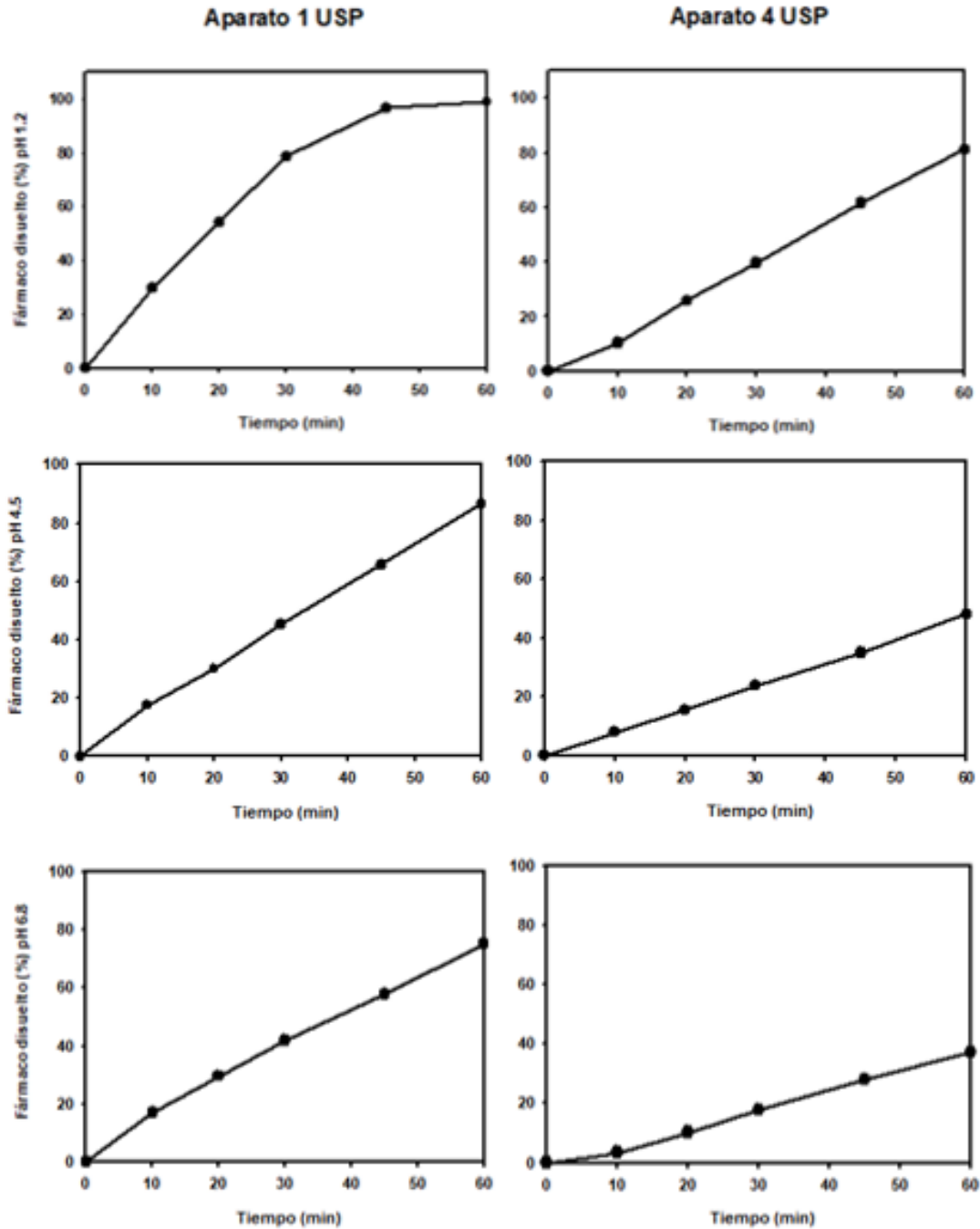


Fig 3. Perfiles de disolución de metronidazol en tabletas obtenidos en el Aparato 1 USP a 100 rpm y 900 mL de medio de disolución (izquierda) y perfiles de disolución obtenidos en el Aparato 4 USP (derecha). Media, n = 12.

Los resultados de los perfiles de disolución demuestran que las condiciones farmacopeicas en medio ácido con pH 1.2 en el Aparato 1 USP son las idóneas para llevar a cabo la evaluación de las tabletas de metronidazol, ya que cumplen con el criterio de aceptación de disolverse no menos del 85% del fármaco en 60 minutos. Además, se demuestra que el porcentaje de coeficiente de variación es menor al 20% para el primer tiempo de muestreo y menor al 10% para los tiempos subsecuentes, como lo muestra la Tabla 10. Sin embargo, se puede observar lo contrario al comparar los resultados del Aparato 4 USP en estas mismas condiciones de la FEUM, ya que el fármaco se disolvió menos del 85% en 60 minutos. La comparación de los dos aparatos se puede observar gráficamente en la Figura 3.

Para las condiciones en pH 4.5 para el Aparato 1 USP se puede observar que se disuelve más del 85% en 60 minutos, sin embargo el porcentaje de coeficiente de variación para el primer tiempo de muestreo es mayor al 20%, lo que indica que en este medio el fármaco no se homogeniza adecuadamente en los primeros minutos de la disolución. Al igual que en el Aparato 4 USP, en donde solo alcanza a disolverse el 48% en 60 minutos, la comparación gráfica de ambos perfiles se observa en la Figura 3, donde se observa que no se alcanza los porcentajes disueltos esperados.

En cuanto a las condiciones con medio a pH 6.8, se puede observar una disolución del fármaco muy limitada, tanto en Aparato 1 y 4 USP como se muestra en la Figura 3.

6.4 Parámetros de disolución del modelo-independiente

Se utilizó el análisis de los parámetros del modelo-independiente para interpretar mejor los resultados de los perfiles de disolución, se calculó el parámetro de porcentaje de Eficiencia de Disolución (ED) y el Tiempo Medio de Disolución (TMD) para los perfiles de ambos aparatos y se compararon estadísticamente entre aparatos, considerando el medio de disolución utilizado. Estos parámetros nos ayudan a comparar de manera más confiable el comportamiento de los perfiles de disolución in vitro de ambos aparatos y están asociados a la velocidad de disolución, los resultados se pueden observar en la Tabla 11.

Comparando datos de Aparato 1 USP y el Aparato 4 USP de acuerdo al medio de disolución utilizado por su pH, podemos observar que en todas las comparaciones se encuentran diferencias significativas (* $p < 0.05$), por lo que las disoluciones entre ambos aparatos no se pueden considerar como similares. Estos parámetros son utilizados para comparar perfiles de disolución por muchos estudios. Además, estos parámetros se utilizan para demostrar correlación IVIVC en el nivel C, con el objetivo de reducir el número de estudios de bioequivalencia en humanos o renunciar a llevarlos a cabo. ⁽²³⁾

Adicionalmente se calculó el parámetro de ($t_{50\%}$) que se define como el tiempo al cual se disuelve el 50% del fármaco, este parámetro también se utiliza para establecer el nivel C de correlación IVIVC significativo, asociando un parámetro de tiempo de disolución, en este caso este nivel representa un único punto de correlación entre un punto en el tiempo de la disolución ($t_{50\%}$) y un parámetro farmacocinético como (C_{max} , ABC o T_{max}). ⁽²³⁾

De cualquier manera, al comparar ambos aparatos con este parámetro considerando el medio de disolución, podemos observar que los $T_{50\%}$ son diferentes, por lo que no se puede considerar que las disoluciones del Aparato 1 UPS son similares a las del Aparato 4 USP. Los resultados se pueden observar en la Tabla 11.

Tabla 11. Parámetros del modelo-independiente, Eficiencia de Disolución (DE), Tiempo Medio de Disolución (TMD) y t_{50} . En Aparato 1 USP (canastillas) y Aparato 4 USP (celda de flujo continuo), a diferentes pH. Media \pm DE, n=12 ($p < 0.05$).

| Parametros | Aparato 1 USP | | | Aparato 4 USP | | |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | pH 1.2 | pH 4.5 | pH 6.8 | pH 1.2 | pH 4.5 | pH 6.8 |
| ED (%) | 66.84 \pm 1.52* | 44.61 \pm 2.64* | 40.16 \pm 1.50* | 39.75 \pm 1.75* | 23.56 \pm 1.63* | 17.60 \pm 1.69* |
| TMD (min) | 19.40 \pm 1.00* | 29.07 \pm 0.98* | 27.84 \pm 1.00* | 30.59 \pm 0.84* | 30.47 \pm 1.12* | 31.59 \pm 1.62* |
| t_{50} | 18.50 | 39.27 | 53.16 | 49.36 | -757.89 | -121.04 |
| Media \pm DE, n=12 * $p < 0.05$. | | | | | | |

6.5 Método de modelo-dependiente para el Aparato 1 USP (canastillas)

A continuación se menciona una breve descripción de las características de los modelos Makoid-Banakar y Weibull, ya que los perfiles de disolución obtenidos en los Aparatos 1

y 4 USP ajustaron a estos modelos cinéticos. como se observa en la Tabla 12 y 13 respectivamnete.

Modelo de Makoid-Banakar

Este modelo comienza a ser identico al de Korsmeyer-Peppas cuando el parametro K es cero. Este modelo sigue un solo mecanismo de difusión. La función “n” gobierna la forma del perfil de disolución.

Tabla 12. Evaluacion del proceso de liberación de las tabletas de Metronidazol 500 (mg) ajustados a diferentes modelos cinéticos. En el Aparato 1 USP (canastillas), a diferentes pH.

| Parámetro | Orden cero | 1er Orden | Higuchi | Korsmeyer-Peppas | Hixson-Crowell | Makoid-Banakar | Weibull 1 | Weibull 2 | Weibull 3 | Weibull 4 |
|------------------------------|------------|-----------|---------|------------------|----------------|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <i>r2 Ajustado</i> pH 1.2 | 0.85 | 0.97 | 0.96 | 0.96 | 0.99 | <u>1.00</u> | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 0.99 |
| <i>r2 Ajustado</i> pH 4.5 | 1.00 | 0.96 | 0.90 | 1.00 | 0.98 | <u>1.00</u> | 0.99 | 0.99 | 1.00 | 1.00 |
| <i>r2 Ajustado</i> pH 6.8 | 0.99 | 0.99 | 0.93 | 1.00 | 1.00 | <u>1.00</u> | 0.99 | 0.99 | 1.00 | 1.00 |
| <i>AIC</i> pH 1.2 | 44.20 | 34.22 | 36.00 | 36.49 | 26.48 | <u>20.71</u> | 24.49 | 23.67 | 24.32 | 25.72 |
| <i>AIC</i> pH 4.5 | 17.55 | 34.18 | 39.55 | 10.83 | 29.80 | <u>9.77</u> | 27.74 | 28.10 | 12.85 | 14.69 |
| <i>AIC</i> pH 6.8 | 24.74 | 25.66 | 35.75 | 5.13 | 18.79 | <u>3.47</u> | 23.36 | 22.22 | 7.15 | 9.13 |

6.6 Método de modelo dependiente para el Aparato 4 USP (celda de flujo continuo)

Modelo de Weibull

Este modelo no puede describir la cinética de liberación de fármaco pero puede describir la curva en términos de parámetros aplicables. Si $\beta = 1$ la respuesta de la liberación corresponde a una cinética de liberación de primer orden, lo que significa que la velocidad de liberación es relativamente constante a la parte no liberada del fármaco. Para $\beta > 1$ esta velocidad se incrementará con el tiempo y viceversa para $\beta < 1$. Si el valor de β es más grande que 1 las gráficas serán de forma sigmoideal. Para β más grande que la unidad el perfil de disolución comenzará a presentar una forma sigmoideal con una velocidad máxima después de cierto tiempo. Posteriormente, un alto valor de β reducirá la fase de liberación y consecuentemente llegará a un término abrupto. El valor de T_d (tiempo necesario para disolver el 63.2 % de la dosis) será tendencialmente más bajo (un proceso de disolución rápido) cuando la velocidad de agitación sea incrementada. El ajuste de los datos de disolución a la función de Weibull enfatiza la forma sigmoideal del perfil de disolución. ⁽²⁴⁾

Tabla 13. Evaluación del proceso de liberación de las tabletas de Metronidazol 500 (mg) ajustados a diferentes modelos cinéticos. En el Aparato 4 USP (celda de flujo continuo), a diferentes pH.

| Parámetro | Orden cero | 1er Orden | Higuchi | Korsmeyer- Peppas | Hixson- Crowell | Makoid- Banakar | Weibull 1 | Weibull 2 | Weibull 3 | Weibull 4 |
|------------------------------|---------------|--------------|---------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|---------------------|
| <i>r2 Ajustado</i> pH 1.2 | 1.00 | 0.94 | 0.85 | 1.00 | 0.97 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | <u>1.00</u> |
| <i>r2 Ajustado</i> pH 4.5 | 1.00 | 0.99 | 0.87 | 1.00 | 0.99 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | <u>1.00</u> |
| <i>r2 Ajustado</i> pH 6.8 | 0.99 | 0.97 | 0.81 | 1.00 | 0.98 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | <u>1.00</u> |
| <i>AIC</i> pH 1.2 | 17.86 | 35.78 | 41.59 | 15.07 | 32.58 | 5.99 | 18.47 | 18.93 | 6.30 | <u>5.11</u> |
| <i>AIC</i> pH 4.5 | 2.02 | 20.90 | 34.05 | 2.74 | 17.23 | <u>0.69</u> | 12.69 | 11.96 | 4.79 | 7.05 |
| <i>AIC</i> pH 6.8 | 16.71 | 22.19 | 33.59 | 11.87 | 20.57 | -3.15 | -7.50 | 6.65 | -1.59 | <u>-8.06</u> |

6.7 Método de convolución en Aparato 1 USP (canastillas)

A continuación, se presentan los resultados de las concentraciones plasmáticas obtenidas por el método de convolución a partir de los datos de disolución obtenidos en el Aparato 1 y 4 USP, en las gráficas se presentan los valores de predicción del error con el objetivo de evaluar el modelo de predicción. Figuras 4 y 5.

Los perfiles de convolución son parecidos a los perfiles reportados en artículos científicos, especialmente los obtenidos con el Aparato 1 USP en medio de disolución de pH 1.2, los valores de C_{max} y ABC_{0-inf} se calcularon con el ajuste de los datos a modelos no lineales (SIGMA PLOT).

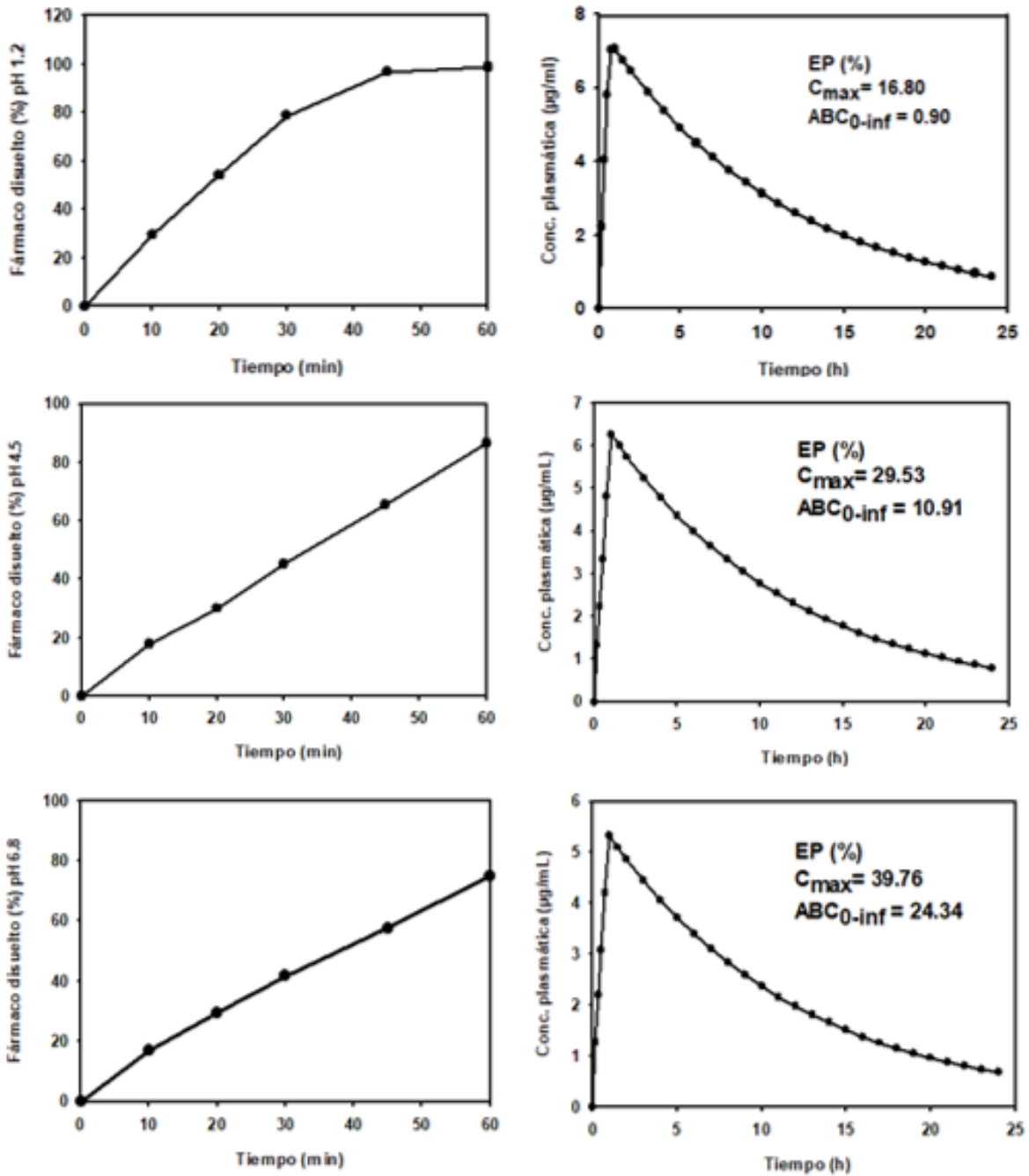


Fig 4. Perfiles de disolución de tabletas de metronidazol obtenidos en el Aparato 1 USP a 100 rpm, diferentes pH y 37 °C (izquierda), y perfiles plasmáticos calculados con los perfiles de disolución mediante el método de convolución (derecha).

6.8 Método de convolución en Aparato 4 USP (celda de flujo continuo)

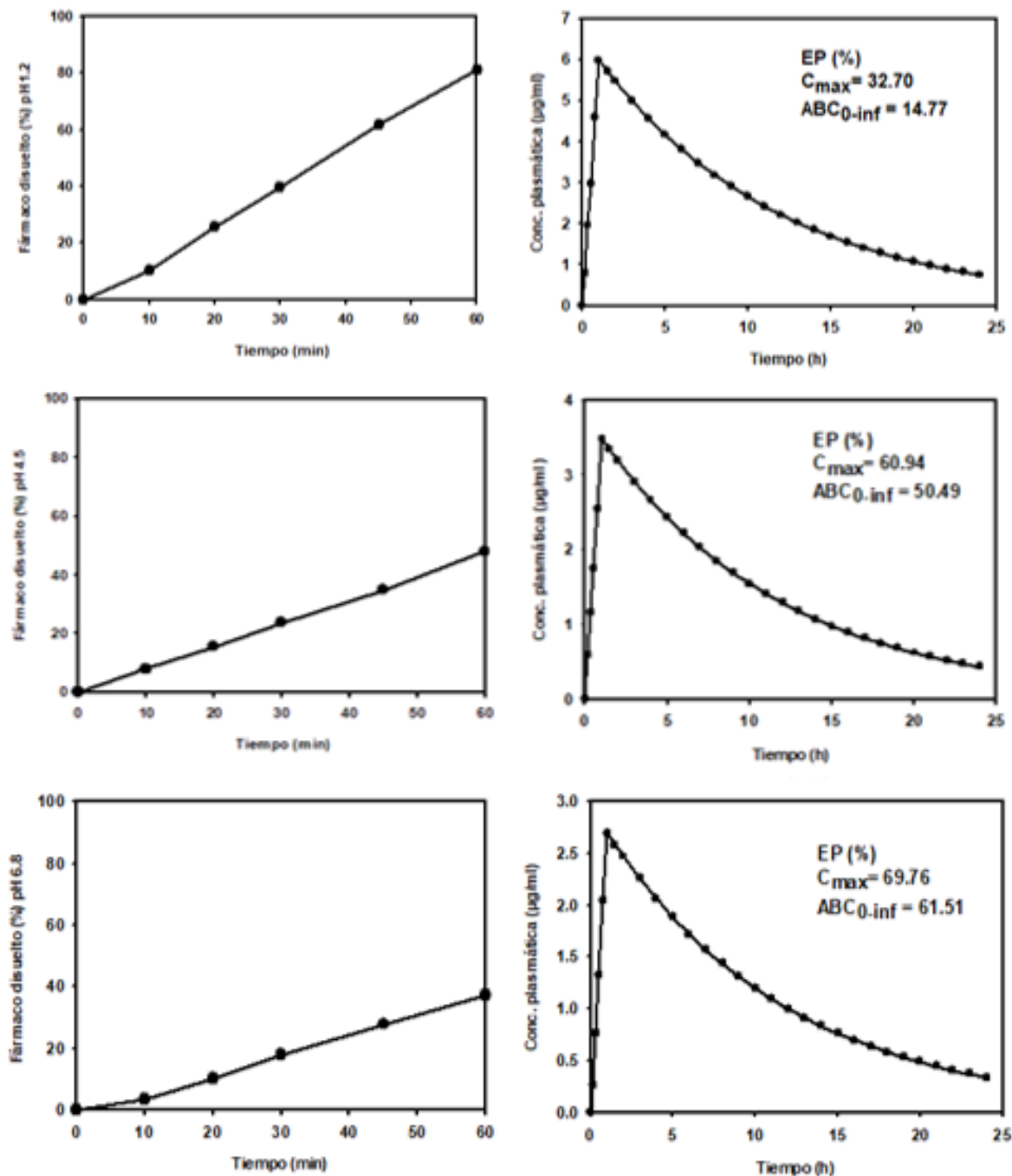


Fig 5. Perfiles de disolución de tabletas de metronidazol obtenidos en el Aparato 4 USP a diferentes pH y 37 °C (izquierda), y perfiles plasmáticos calculados con los perfiles de disolución mediante el método de convolución (derecha).

6.9 Parametros del método de convolución

Después de llevar a cabo estudios de disolución de metronidazol del medicamento de referencia bajo diferentes condiciones, únicamente con el Aparato 1 USP a 100 rpm y solución de pH 1.2 fue posible obtener un perfil plasmático estimado cuyos valores de C_{max} y ABC_{0-inf} permiten ser comparables con los mismos parámetros farmacocinéticos de un estudio en humanos. Sin embargo, debido a que estos valores de predicción del error se encuentran en el intervalo del 10 al 20 % los resultados no pueden ser concluyentes por lo que es necesario realizar estudios adicionales para corroborar la exitosa predicción del desempeño in-vivo de las tabletas de referencia de metronidazol, como se observa en las Tablas 14 y 15. Una vez encontradas las condiciones adecuadas para la predicción sería importante evaluar las formulaciones genéricas cuyo objetivo es la intercambiabilidad con la referencia sin una repercusión negativa en la manifestación oportuna del efecto terapéutico. ⁽¹³⁾

Tabla 14. Valores de los parámetros farmacocinéticos C_{max} y ABC_{0-inf} calculados con los perfiles plasmáticos estimados por convolución a partir de los datos in-vitro.

| Equipo | Aparato 1 USP | | | Aparato 4 USP | | |
|--|----------------------|---------------|---------------|----------------------|---------------|---------------|
| pH | pH 1.2 | pH 4.5 | pH 6.8 | pH 1.2 | pH 4.5 | pH 6.8 |
| C_{max} ($\mu\text{g/ml}$) | 7.07 | 5.99 | 5.12 | 5.62 | 3.32 | 2.57 |
| ABC_{0-inf} ($\mu\text{gh/ml}$) | 83.45 | 73.68 | 62.57 | 69.34 | 40.94 | 31.84 |

Tabla 15. Valores del (%) de Error de Predicción de los parámetros farmacocinéticos C_{max} y ABC_{0-inf} , en los Aparatos 1 y 4 USP a diferentes pH.

| Equipo | Aparato 1 USP | | | Aparato 4 USP | | |
|--|----------------------|---------------|---------------|----------------------|---------------|---------------|
| pH | pH 1.2 | pH 4.5 | pH 6.8 | pH 1.2 | pH 4.5 | pH 6.8 |
| C_{max} ($\mu\text{g/ml}$) | 16.82 | 29.53 | 39.76 | 32.70 | 60.94 | 69.76 |
| ABC_{0-inf} ($\mu\text{gh/ml}$) | 0.90 | 10.91 | 24.34 | 16.15 | 50.49 | 61.51 |

7. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

Se logro cumplir con el objetivo de la presente investigación ya que se predijo el comportamiento in-vivo de una formulación comercial de metronidazol mediante el tratamiento de matemático con el método de convolución a través de resultados de disolución in-vitro.

Los objetivos específicos también se cumplieron, ya que se lograron realizar estudios de disolución in-vitro de las tabletas de metronidazol bajo diferentes condiciones de pH. Además de predecir el comportamiento in-vivo de las formulaciones a través de datos de disolución generados en las pruebas in-vitro, con el método de convolución y fracción absorbida.

Se lograron comparar los perfile de disolución del Aparato 1 USP y 4 USP, con los parámetros del modelo-independiente, y se realizo la evaluación de los procesos de liberación de las tabletas de metronidazol ajustando a diferentes modelos cinéticos con el método de modelo-dependiente.

Se logro evaluar el control de calidad de las tabletas de metronidazol de referencia con la valoración (molido) y uniformidad de dosis.

8. CONCLUSIONES

Se realizaron pruebas de disolución con la formulación comercial de metronidazol utilizando el Aparato 1 USP canastillas y el Aparato 4 USP celda de flujo continuo con medios de disolución con diferentes condiciones. Se logro cuantificar espectrofotométricamente de manera precisa las cantidades de fármaco disueltas en ambos aparatos. Además de que el fármaco cumplió con los criterios de control de calidad y uniformidad de dosis establecidos. Sin embargo, solo con el Aparato 1 USP canastillas cumplió con el criterio de una rápida y correcta disolución con condiciones de pH 1.2, siendo estas condiciones las correctas para hacer pruebas de disolución en tabletas de metronidazol. Mientras tanto el Aparato 4 celda de flujo continuo se utilizo ya que este aparato asemeja mejor las condiciones del tracto gastrointestinal. Para comparar de manera correcta las disoluciones de ambos aparatos se calcularon los parámetros del modelo independiente, en donde se observa que en todas las comparaciones entre parámetros existen diferencias significativas. Adicionalmente se evaluaron los procesos de liberación de fármaco de las tabletas ajustando a diferentes modelos cinéticos en donde el Aparato 1 USP se ajustó al modelo de Makoid-Banakar y el Aparato 4 USP se ajusto al modelo de Weibull 4. Por último, al utilizar el modelo de convolución, se logro obtener un perfil plasmático con valores de C_{max} y ABC_{0-inf} comparables con parámetros farmacocinéticos en humanos. Sin embargo, se necesitan hacer estudios adicionales ya que los valores de porcentaje de error de predicción no pueden ser concluyentes para corroborar la predicción del desempeño in-vivo del fármaco de metronidazol.

9. BIBLIOGRAFÍA

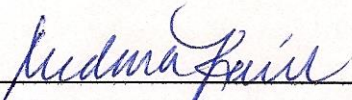
1. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 4173, Metronidazole. Retrieved October 25, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Metronidazole>.
2. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), undécima edición, 2014. Pp. 1194; 313.
3. S.J. Enna, David B. Bylund. Metronidazole, xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. Elsevier, 2007, 1-7, <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.62177-4>.
4. J.K. Aronson. Metronidazole, Meyler's Side Effects of Drugs (Sixteenth Edition), Elsevier, 2016, 989-997, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53717-1.01077-5>.
5. Samuel L.M. Arnold, Nina Isoherranen. 1.29 - Role of Pharmacokinetics and Pharmacokinetic Modeling in Drug Development, Comprehensive Pharmacology, Elsevier, 2022, 743-768, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820472-6.00066-9>.
6. Lau AH, Emmons K, Seligsohn R. Pharmacokinetics of intravenous metronidazole at different dosages in healthy subjects. International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy, and Toxicology, 1991, (10):386-390. PMID: 1748538.
7. Saeed A. Qureshi. In vivo-in vitro correlation (IVIVC) and determining drug concentrations in blood from dissolution testing – A simple and practical approach, The Open Drug Delivery Journal, 2010, 4, 38-47. doi:[10.2174/1874126601004010038](https://doi.org/10.2174/1874126601004010038)
8. Ralph ED. Clinical pharmacokinetics of metronidazole. Clin Pharmacokinet. 1983, 43-62. doi:[10.2165/00003088-198308010-00003](https://doi.org/10.2165/00003088-198308010-00003)
9. Lamp KC, Freeman CD, Klutman NE, Lacy MK. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the nitroimidazole antimicrobials. Clin Pharmacokinet. 1999, (5), 353-73. doi:[10.2165/00003088-199936050-00004](https://doi.org/10.2165/00003088-199936050-00004)
10. Lau AH, Lam NP, Piscitelli SC, Wilkes L, Danziger LH. Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole anti-infectives. Clin Pharmacokinet. 1992, (5), 328-64. doi: [10.2165/00003088-199223050-00002](https://doi.org/10.2165/00003088-199223050-00002)

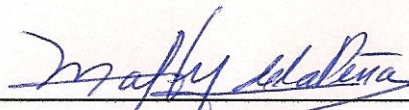
11. Talevi A, Quiroga P, Ruiz ME. Procesos biofarmacéuticos, Su relación con el diseño de formas farmacéuticas y el éxito de la farmacoterapia. Universidad Nacional de la Plata. 2016, capítulos 1-5 y 7.
12. Cárdenas HL, Cortés AL. Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco capítulos 3, 4 y 5.
13. Food and Drug Administration. Guidance for industry: extended release oral dosage forms: Development, evaluation, and application of *in vitro/in vivo* correlations. 1997, Available at: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070239.pdf>.
14. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products - General Considerations. 2003. Available at: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070124.pdf>
15. Gray V, Kelly G, Xia M, Butler C, Thomas S, Mayock S. The science of USP 1 and 2 dissolution: present challenges and future relevance. *Pharm Res*. 2009 (6), 1289-302. doi: [10.1007/s11095-008-9822-x](https://doi.org/10.1007/s11095-008-9822-x)
16. Medina López, José Raúl, Hurtado y de la Peña, Marcela, Cortés Arroyo, Alma Rosa, & Domínguez Ramírez, Adriana Miriam. Disolución comparativa de indometacina en cápsulas utilizando los Aparatos 1 y 4 USP. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 2012, (3), 72-80. Recuperado en 02 de noviembre de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300008&lng=es&tlng=es.
17. Qureshi SA, Caillé G, Brien R, Piccirilli G, Yu V, Mc Gilveray IJ. Application of flow-through dissolution method for evaluation of oral formulations of nifedipine. *Drug Dev Ind Pharm*. 1994; 20:1869-1882. doi: <https://doi.org/10.3109/03639049409050214>
18. Zhang GH, Vadino WA, Yang TT, Cho WP, Chaudry IA. Evaluation of the flow through cell dissolution apparatus: effects of flow rate, glass beads and tablet

- position on drug release from different types of tablets. Drug Dev Ind Pharm 1994; 20: 2063- 2078. [doi:10.3109/03639049409050222](https://doi.org/10.3109/03639049409050222)
19. Szymanska E, Winnicka K. Comparison of Flow-Through Cell and Paddle Methods for Testing Vaginal Tablets Containing a Poorly Water-Soluble Drug. Tropical Journal of Pharmaceutical. 2013; 12 (1): 39-44. doi: [10.4314/tjpr.v12i1.7](https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i1.7)
 20. Singha I, Aboul-Eneinb HY. Advantages of USP Apparatus IV (Flow-through Cell Apparatus) in Dissolution Studies. Journal of the Iranian Chemical Society. 2006, 3 (3): 220-222. Recuperado el 02 de Noviembre de 2022, <https://www.ics-ir.org/jics/archive/v3/3/review/pdf/JICS-3-3-Review-2.pdf>.
 21. Mejía R. Salgado H. Medicamentos genéricos, bioequivalencia y su importancia en el sector salud. Secretaria de Salud. 2018, Disponible en: <https://www.salud.cdmx.gob.mx/storage/app/media/2018-2024/medicamentos/FICHAS%20TECNICAS/BOLETINES%20USO%20RACIONAL%20MEDICAMENTOS/2019/boletin%203%20Bioequiv%20oct%2019.pdf>
 22. Diario Oficial. 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. México: Consejo de Salubridad General. 2013. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5314833&fecha=20/09/2013
 23. Anderson NH, Bauer M, Boussac N, Khan-Malek R, Munden P, Sardaro M. An evaluation of fit factors and dissolution efficiency for the comparison of in vitro dissolution profiles. J Pharm Biomed Anal. 1998 Aug;17(4-5):811-22. doi: 10.1016/s0731-7085(98)00011-9.
 24. Llango KB, Kavinami S. A systematic review of mathematical models of pharmaceutical dosage forms. Internatiponal Joirnal of Current Pharmaceutical Review and Research. 2015, volume (6), 59-70. ISSN: 0976-822X
 25. Rastogi, Vaibhav & Yadav, Pragya & Lal, Niharika & Rastogi, Pallavi & Singh, B.K. & Verma, Navneet & Verma, Anurag. (2018). Mathematical prediction of

pharmacokinetic parameters-an in-vitro approach for investigating pharmaceutical products for IVIVC. Future Journal of Pharmaceutical Sciences. 4. 10.1016/j.fjps.2018.03.001.

Vo. Bo. de los asesores respecto a los contenidos académicos


M. en C. José Raúl Medina López


M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

INFORME DE ACTIVIDADES DEL SERVICIO SOCIAL:

ENSAYOS PRELIMINARES DE PREDICCIÓN DE NIVELES PLASMÁTICOS DE
METRONIDAZOL MEDIANTE ESTUDIOS DE DISOLUCIÓN IN-VITRO.

PROYECTO GÉNÉRICO CORRESPONDIENTE:
EVALUCIÓN DE PRODUCTOS RELACIONADOS CON LA SALUD.

ALUMNO: YONATAN JOCEL GÓMEZ VARGAS
MATRÍCULA: 2152030256 DIRECCIÓN Y TELÉFONO:
CALLE: GUANAJUATO Mz. 23 Lt. 2, GUSTAVO A. MADERO. TEL. 5587008722

ASESORES: M. EN C. JOSÉ RAÚL MEDINA LÓPEZ.
M. EN C. MARCELA HURTADO Y DE LA PEÑA.

LUGAR DE REALIZACIÓN: LABORATORIOS N-107 Y N-012 DE LA UIDIS,
DEPARTAMENTO SISTEMAS BIOLÓGICOS, UAM-XOCHIMILCO.

FECHA DE INICIO: 30 DE JUNIO DEL 2022
FECHA DE TERMINACIÓN: 30 DE DICIEMBRE DE 2022

ENERO, 2023

10. RESUMEN

INTRODUCCIÓN

El metronidazol es un fármaco antimicrobiano indicado en el tratamiento de la tricomoniasis, amebiasis intestinal, giardiasis y en la profilaxis y tratamiento de infecciones anaeróbicas. En el metronidazol esta disponible en diferentes formas farmacéuticas y las tabletas es la forma de dosificación más utilizada por las ventajas que tiene para el paciente en el transporte e ingestión de un producto sólido.

En general la absorción del metronidazol es buena y presenta una biodisponibilidad mayor al 90%. Sin embargo, en pacientes se han reportado variaciones en la absorción, casos de bioequivalencia e ineffectividad debido a bajos niveles de fármaco en sangre.

Los estudios de disolución in-vitro son la mejor opción para predecir el desempeño in-vivo de la formulación. Sobre este tema, se han documentado diferencias en la liberación del metronidazol de productos comerciales y aun entre lotes de la misma marca. La prueba oficial de tabletas de metronidazol se encuentra reportada en la farmacopea nacional. Los lineamientos internacionales para evaluar la disolución de formas solidas de dosificación oral sugieren el uso de tres medios de disolución (pH 1.2, 4.5 y 6.8) para documentar el proceso de liberación a lo largo del tracto gastrointestinal.

Por otro lado, procedimientos matemáticos que involucran parámetros farmacocinéticos como vida media ($t_{1/2}$), volumen de distribución (V_d) y biodisponibilidad (F) permiten estimar el perfil de concentración plasmática vs tiempo a partir de datos de disolución in-vitro. Con esta información es posible comparar el desempeño in-vivo estimado con el área bajo la curva de 0 a infinito (ABC_{0-inf}) y concentración plasmática máxima (C_{max}) de un estudio en humanos y escoger las condiciones de disolución que generen una variación o error de predicción (EP) < 10% ($EP\% = (\text{parámetro observado} - \text{parámetro estimado}) / \text{parámetro observado} \times 100$). Las condiciones escogidas se convierten en el marco de referencia ideal para comparar los medicamentos genéricos a fin de asegurar una intercambiabilidad eficaz.

OBJETIVO GENERAL

Predecir el comportamiento in-vivo de formulaciones comerciales de metronidazol mediante tratamiento matemático de resultados de disolución in-vitro.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Realizar estudios de disolución in-vitro de tabletas y/o suspensiones de metronidazol del medicamento de referencia bajo diferentes condiciones.
- Predecir el comportamiento in-vivo de las formulaciones a través de los datos de disolución generados con las pruebas in-vitro. Esto mediante el cálculo del perfil plasmático por la técnica de convolución y la fracción absorbida obtenida con el método de Wagner-Nelson o Loo-Riegelman, dependiendo del caso.

CONCLUSIONES

Se realizaron pruebas de disolución con la formulación comercial de metronidazol utilizando el Aparato 1 USP canastillas y el Aparato 4 USP celda de flujo continuo con medios de disolución con diferentes condiciones. Se logró cuantificar espectrofotométricamente de manera precisa las cantidades de fármaco disueltas en ambos aparatos. Además de que el fármaco cumplió con los criterios de control de calidad y uniformidad de dosis establecidos. Sin embargo, solo con el Aparato 1 USP canastillas cumplió con el criterio de una rápida y correcta disolución con condiciones de pH 1.2, siendo estas condiciones las correctas para hacer pruebas de disolución en tabletas de metronidazol. Mientras tanto el Aparato 4 celda de flujo continuo se utilizó ya que este aparato asemeja mejor las condiciones del tracto gastrointestinal. Para comparar de manera correcta las disoluciones de ambos aparatos se calcularon los parámetros del modelo independiente, en donde se observa que en todas las comparaciones entre parámetros existen diferencias significativas. Adicionalmente se evaluaron los procesos de liberación de fármaco de las tabletas ajustando a diferentes modelos cinéticos en donde el Aparato 1 USP se ajustó al modelo de Makoid-Banakar y el Aparato 4 USP se ajustó al modelo de Weibull 4. Por último, al utilizar el modelo de convolución, se logró obtener un perfil plasmático con valores de C_{max} y ABC_{0-inf} comparables con parámetros farmacocinéticos en humanos. Sin embargo, se necesitan hacer estudios adicionales ya

que los valores de porcentaje de error de predicción no pueden ser concluyentes para corroborar la predicción del desempeño in-vivo del fármaco de metronidazol.

BIBLIOGRAFÍA

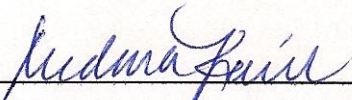
1. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 4173, Metronidazole. Retrieved October 25, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Metronidazole>.
2. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), undécima edición, 2014. Pp. 1194; 313.
3. S.J. Enna, David B. Bylund. Metronidazole, xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. Elsevier, 2007, 1-7, <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.62177-4>.
4. J.K. Aronson. Metronidazole, Meyler's Side Effects of Drugs (Sixteenth Edition), Elsevier, 2016, 989-997, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53717-1.01077-5>.
5. Samuel L.M. Arnold, Nina Isoherranen. 1.29 - Role of Pharmacokinetics and Pharmacokinetic Modeling in Drug Development, Comprehensive Pharmacology, Elsevier, 2022, 743-768, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820472-6.00066-9>.
6. Lau AH, Emmons K, Seligsohn R. Pharmacokinetics of intravenous metronidazole at different dosages in healthy subjects. International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy, and Toxicology, 1991, (10):386-390. PMID: 1748538.
7. Saeed A. Qureshi. In vivo-in vitro correlation (IVIVC) and determining drug concentrations in blood from dissolution testing – A simple and practical approach, The Open Drug Delivery Journal, 2010, 4, 38-47. doi:[10.2174/1874126601004010038](https://doi.org/10.2174/1874126601004010038)
8. Ralph ED. Clinical pharmacokinetics of metronidazole. Clin Pharmacokinet. 1983, 43-62. doi:[10.2165/00003088-198308010-00003](https://doi.org/10.2165/00003088-198308010-00003)
9. Lamp KC, Freeman CD, Klutman NE, Lacy MK. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the nitroimidazole antimicrobials. Clin Pharmacokinet. 1999, (5), 353-73. doi:[10.2165/00003088-199936050-00004](https://doi.org/10.2165/00003088-199936050-00004)
10. Lau AH, Lam NP, Piscitelli SC, Wilkes L, Danziger LH. Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole anti-infectives. Clin Pharmacokinet. 1992, (5), 328-64. doi: [10.2165/00003088-199223050-00002](https://doi.org/10.2165/00003088-199223050-00002)

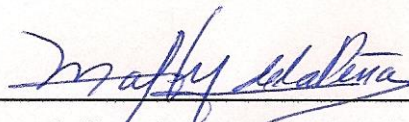
11. Talevi A, Quiroga P, Ruiz ME. Procesos biofarmacéuticos, Su relación con el diseño de formas farmacéuticas y el éxito de la farmacoterapia. Universidad Nacional de la Plata. 2016, capítulos 1-5 y 7.
12. Cárdenas HL, Cortés AL. Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco capítulos 3, 4 y 5.
13. Food and Drug Administration. Guidance for industry: extended release oral dosage forms: Development, evaluation, and application of *in vitro/in vivo* correlations. 1997, Available at: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070239.pdf>.
14. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products - General Considerations. 2003. Available at: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070124.pdf>
15. Gray V, Kelly G, Xia M, Butler C, Thomas S, Mayock S. The science of USP 1 and 2 dissolution: present challenges and future relevance. *Pharm Res*. 2009 (6), 1289-302. doi: [10.1007/s11095-008-9822-x](https://doi.org/10.1007/s11095-008-9822-x)
16. Medina López, José Raúl, Hurtado y de la Peña, Marcela, Cortés Arroyo, Alma Rosa, & Domínguez Ramírez, Adriana Miriam. Disolución comparativa de indometacina en cápsulas utilizando los Aparatos 1 y 4 USP. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 2012, (3), 72-80. Recuperado en 02 de noviembre de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300008&lng=es&tlng=es.
17. Qureshi SA, Caillé G, Brien R, Piccirilli G, Yu V, Mc Gilveray IJ. Application of flow-through dissolution method for evaluation of oral formulations of nifedipine. *Drug Dev Ind Pharm*. 1994; 20:1869-1882. doi: <https://doi.org/10.3109/03639049409050214>
18. Zhang GH, Vadino WA, Yang TT, Cho WP, Chaudry IA. Evaluation of the flow through cell dissolution apparatus: effects of flow rate, glass beads and tablet

- position on drug release from different types of tablets. Drug Dev Ind Pharm 1994; 20: 2063- 2078. [doi:10.3109/03639049409050222](https://doi.org/10.3109/03639049409050222)
19. Szymanska E, Winnicka K. Comparison of Flow-Through Cell and Paddle Methods for Testing Vaginal Tablets Containing a Poorly Water-Soluble Drug. Tropical Journal of Pharmaceutical. 2013; 12 (1): 39-44. doi: [10.4314/tjpr.v12i1.7](https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i1.7)
 20. Singha I, Aboul-Eneinb HY. Advantages of USP Apparatus IV (Flow-through Cell Apparatus) in Dissolution Studies. Journal of the Iranian Chemical Society. 2006, 3 (3): 220-222. Recuperado el 02 de Noviembre de 2022, <https://www.ics-ir.org/jics/archive/v3/3/review/pdf/JICS-3-3-Review-2.pdf>.
 21. Mejía R. Salgado H. Medicamentos genéricos, bioequivalencia y su importancia en el sector salud. Secretaria de Salud. 2018, Disponible en: <https://www.salud.cdmx.gob.mx/storage/app/media/2018-2024/medicamentos/FICHAS%20TECNICAS/BOLETINES%20USO%20RACIONAL%20MEDICAMENTOS/2019/boletin%203%20Bioequiv%20oct%2019.pdf>
 22. Diario Oficial. 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. México: Consejo de Salubridad General. 2013. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5314833&fecha=20/09/2013
 23. Anderson NH, Bauer M, Boussac N, Khan-Malek R, Munden P, Sardaro M. An evaluation of fit factors and dissolution efficiency for the comparison of in vitro dissolution profiles. J Pharm Biomed Anal. 1998 Aug;17(4-5):811-22. doi: 10.1016/s0731-7085(98)00011-9.
 24. Llango KB, Kavinami S. A systematic review of mathematical models of pharmaceutical dosage forms. Internatiponal Joirnal of Current Pharmaceutical Review and Research. 2015, volume (6), 59-70. ISSN: 0976-822X
 25. Rastogi, Vaibhav & Yadav, Pragya & Lal, Niharika & Rastogi, Pallavi & Singh, B.K. & Verma, Navneet & Verma, Anurag. (2018). Mathematical prediction of

pharmacokinetic parameters-an in-vitro approach for investigating pharmaceutical products for IVIVC. Future Journal of Pharmaceutical Sciences. 4. 10.1016/j.fjps.2018.03.001.

Vo. Bo. de los asesores respecto a los contenidos académicos


M. en C. José Raúl Medina López


M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña

11. ANEXOS

Anexo 1. Curvas de calibración

Curva de calibración en pH 4.5

Tabla 16. Datos de curvas de calibración pH 4.5

| Concentración Promedio (\bar{x}) ($\mu\text{g/mL}$) | Abs 1 | Abs 2 | Abs 3 | Abs 4 | Promedio (\bar{x}) Absorbancias | DE | (%) CV |
|---|-------|-------|-------|-------|-------------------------------------|--------|--------|
| 10.28 | 0.16 | 0.17 | 0.16 | 0.16 | 0.16 | 0.0017 | 1.05 |
| 15.41 | 0.24 | 0.24 | 0.24 | 0.24 | 0.24 | 0.0043 | 1.82 |
| 20.55 | 0.30 | 0.32 | 0.29 | 0.32 | 0.31 | 0.0139 | 4.54 |
| 30.83 | 0.47 | 0.45 | 0.47 | 0.45 | 0.46 | 0.0101 | 2.20 |
| 35.96 | 0.54 | 0.53 | 0.54 | 0.53 | 0.53 | 0.0031 | 0.58 |

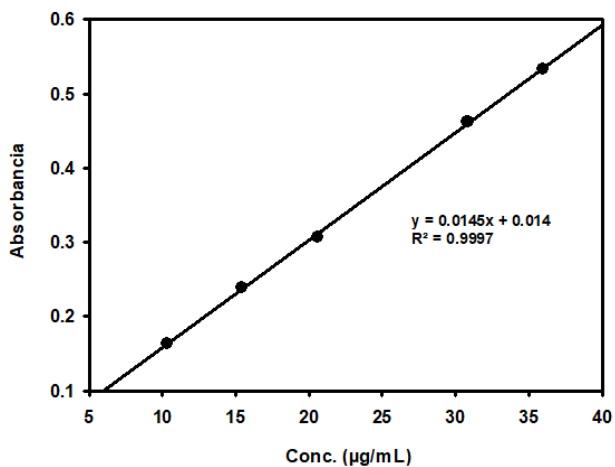


Fig 6. Curva de calibración en pH 4.5 con ecuación y r^2 . Media \pm DE.

Curva de calibración en pH 6.8

Tabla 17. Datos de curvas de calibración pH 6.8

| Concentración Promedio (\bar{x}) ($\mu\text{g/mL}$) | Abs 1 | Abs 2 | Abs 3 | Abs 4 | Promedio (\bar{x}) Absorbancias | DE | (%) CV |
|---|-------|-------|-------|-------|-------------------------------------|--------|--------|
| 10.30 | 0.16 | 0.15 | 0.15 | 0.17 | 0.15 | 0.0087 | 5.61 |
| 15.45 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.0026 | 1.12 |
| 20.60 | 0.31 | 0.31 | 0.29 | 0.31 | 0.31 | 0.0115 | 3.78 |
| 30.90 | 0.46 | 0.46 | 0.45 | 0.48 | 0.46 | 0.0108 | 2.34 |
| 36.05 | 0.54 | 0.55 | 0.54 | 0.54 | 0.54 | 0.0040 | 0.75 |

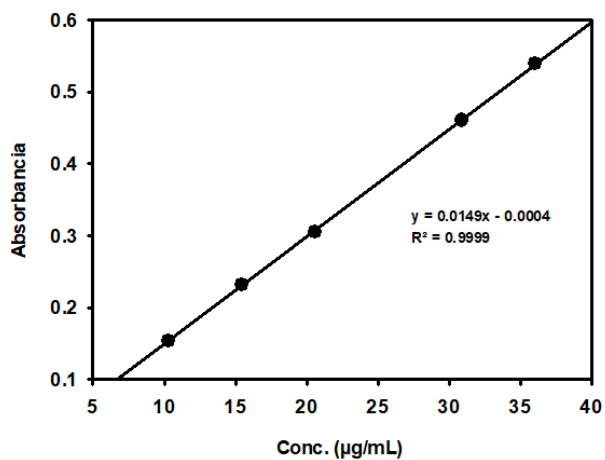


Fig 7. Curva de calibración en pH 6.8 con ecuación y r^2 . Media \pm DE.

Anexo 2. Cálculo de Convulación

Procedimiento para obtener el perfil plasmático a partir del perfil de disolución.

En este anexo tomaremos como ejemplo los datos del Aparato 1 (canastillas) con pH 1.2, para mostrar el procedimiento de obtención de los perfiles plasmáticos.

Partimos de los datos obtenidos por el perfil de disolución in-vitro. Como se muestra en la Figura 8.

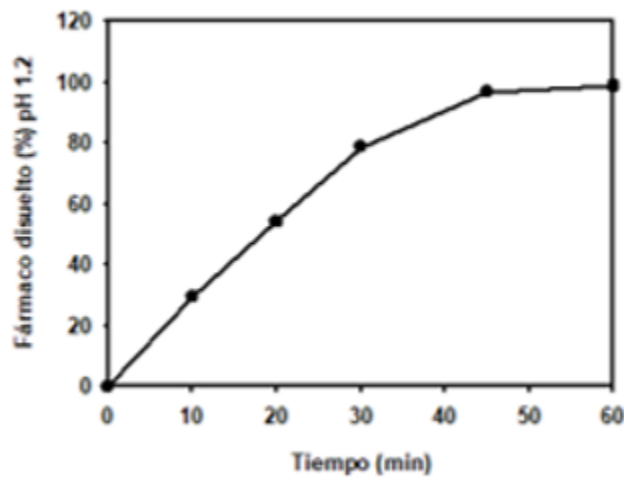


Fig 8. Perfil de disolución de tabletas de metronidazol obtenido en el Aparato 1 USP a 100 rpm, pH 1.2 y 37 °C. Media, n = 12.

1. Los datos de los perfiles de disolución de liberación de fármaco de metronidazol obtenidos de la prueba de disolución Tabla 18, se convirtieron en cantidades en (mg) dentro de los intervalos de cada tiempo de muestreo, con la siguiente formula:

$$\frac{(\% \text{ Disolución dentro de los intervalos de tiempo}) \times (\text{Dosis (mg)})}{100}$$

Tabla 18. Conversión de porcentajes disueltos a cantidades en (mg), del perfil de disolución en Aparato 1 USP, con pH 1.2.

| Tiempo (h) | % Disuelto (acumulado) | % Disuelto (dentro de los intervalos de tiempo) | Cantidad. (mg) liberada (dentro de los intervalos de tiempo) |
|------------|------------------------|---|--|
| 0.00 | 0.00 | - | - |
| 0.17 | 29.56 | 29.56 | 147.80 |
| 0.33 | 54.17 | 24.61 | 123.04 |
| 0.50 | 78.63 | 24.46 | 122.28 |
| 0.75 | 96.63 | 18.00 | 90.00 |
| 1.00 | 98.78 | 2.16 | 10.78 |

2. Se procede a calcular los (mg) de fármaco después de la absorción, pero dado que después de la absorción del fármaco, la fase de eliminación comienza con una cinética de primer orden, por lo que la cantidad de fármaco eliminada con el tiempo se tiene que calcular también para conocer la cantidad real en (mg) en sangre después de la absorción. Se utilizo la siguiente fórmula para calcular lo (mg) de fármaco para cada segmento de cada cantidad, teniendo en cuenta los (mg) de fármaco que están siendo eliminados. Los resultados se muestran en la Tabla 19.

$$(Cantidad\ predicha\ (mg)) - (t2 - t1) \times (ke) \times (cantidad\ predicha\ (mg))$$

La cantidad predicha es la cantidad de fármaco en la sangre en cada intervalo de tiempo (t1 y t2) y Ke es la constante de velocidad de eliminación de primer orden.

3. La cantidad total de fármaco presente en la sangre en diferentes momentos se calculó sumando todas las cantidades de fármaco calculadas para cada momento. Como se muestra en la Tabla 19.

Tabla 19. Niveles de fármaco calculados a diferentes tiempos siguiendo la absorción del fármaco liberado in-vitro durante intervalos de muestreo de tabletas de Metronidazol (500 mg) en Aparato 1 USP, pH 1,2. Los valores representan el promedio de 12 tabletas.

| Tiempos de muestreo de disolución | 0.17 | 0.33 | 0.50 | 0.75 | 1.00 | | |
|-------------------------------------|---|---------------|---------------|--------------|--------------|---|----------------------|
| Cantidad (mg) equivalente | 147.80 | 123.04 | 122.28 | 90.00 | 10.78 | | |
| Tiempos después de la absorción (h) | Cantidad en sangre (mg) después de la absorción | | | | | Cantidad total en sangre (mg) después de la absorción | Concentración. µg/mL |
| 0.00 | - | - | - | - | - | - | 0.00 |
| 0.17 | 147.80 | | | | | 148.00 | 2.22 |
| 0.33 | 145.75 | 123.04 | | | | 268.79 | 4.03 |
| 0.50 | 143.61 | 121.23 | 122.28 | | | 387.11 | 5.81 |
| 0.75 | 140.50 | 118.60 | 119.63 | 90.00 | | 468.73 | 7.03 |
| 1.00 | 137.45 | 116.03 | 117.04 | 88.05 | 10.78 | 469.36 | 7.04 |
| 1.50 | 131.50 | 111.01 | 111.97 | 84.24 | 10.31 | 449.03 | 6.74 |
| 2.00 | 125.80 | 106.20 | 107.12 | 80.59 | 9.87 | 429.58 | 6.44 |
| 3.00 | 114.91 | 97.00 | 97.84 | 73.61 | 9.01 | 392.37 | 5.89 |
| 4.00 | 104.95 | 88.60 | 89.37 | 67.23 | 8.23 | 358.38 | 5.38 |
| 5.00 | 95.86 | 80.92 | 81.63 | 61.41 | 7.52 | 327.34 | 4.91 |
| 6.00 | 87.56 | 73.91 | 74.55 | 56.09 | 6.87 | 298.98 | 4.48 |
| 7.00 | 79.97 | 67.51 | 68.10 | 51.23 | 6.27 | 273.08 | 4.10 |
| 8.00 | 73.04 | 61.66 | 62.20 | 46.79 | 5.73 | 249.42 | 3.74 |
| 9.00 | 66.72 | 56.32 | 56.81 | 42.74 | 5.23 | 227.82 | 3.42 |
| 10.00 | 60.94 | 51.44 | 51.89 | 39.04 | 4.78 | 208.08 | 3.12 |
| 11.00 | 55.66 | 46.99 | 47.39 | 35.65 | 4.37 | 190.06 | 2.85 |
| 12.00 | 50.84 | 42.92 | 43.29 | 32.57 | 3.99 | 173.59 | 2.60 |
| 13.00 | 46.43 | 39.20 | 39.54 | 29.75 | 3.64 | 158.56 | 2.38 |
| 14.00 | 42.41 | 35.80 | 36.11 | 27.17 | 3.33 | 144.82 | 2.17 |
| 15.00 | 38.74 | 32.70 | 32.99 | 24.81 | 3.04 | 132.28 | 1.98 |
| 16.00 | 35.38 | 29.87 | 30.13 | 22.67 | 2.77 | 120.82 | 1.81 |
| 17.00 | 32.32 | 27.28 | 27.52 | 20.70 | 2.53 | 110.35 | 1.66 |
| 18.00 | 29.52 | 24.92 | 25.13 | 18.91 | 2.31 | 100.79 | 1.51 |
| 19.00 | 26.96 | 22.76 | 22.96 | 17.27 | 2.11 | 92.06 | 1.38 |
| 20.00 | 24.63 | 20.79 | 20.97 | 15.77 | 1.93 | 84.09 | 1.26 |
| 21.00 | 22.49 | 18.99 | 19.15 | 14.41 | 1.76 | 76.80 | 1.15 |
| 22.00 | 20.54 | 17.34 | 17.49 | 13.16 | 1.61 | 70.15 | 1.05 |
| 23.00 | 18.76 | 15.84 | 15.98 | 12.02 | 1.47 | 64.07 | 0.96 |
| 24.00 | 17.14 | 14.47 | 14.59 | 10.98 | 1.34 | 58.52 | 0.88 |

4. El último paso fue calcular la concentración sanguínea del fármaco en ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de cada tiempo, los datos se muestran en la Tabla 19. Esto proporcionará los perfiles de nivel en sangre esperados. Esto se hizo con la siguiente fórmula, multiplicando la cantidad de sangre en cada momento por la biodisponibilidad dividiendo el volumen de distribución por el peso corporal promedio. Podemos observar perfil plasmático obtenido del perfil de disolución en Aparato 1 USP, con pH 1,2 en la Figura 9.

$$\text{Concentración pronosticada } (\mu\text{g}/\text{mL}) \text{ de cada tiempo} \\ = (\text{Cantidad total en sangre prevista (mg)} \times (F)) / (Vd \text{ (L)} \times \left(\frac{1000}{1000}\right))$$

Donde F es la biodisponibilidad, el Volumen de distribución (Vd) está en litros y $\left(\frac{1000}{1000}\right)$ es el factor de conversión para reportar la concentración en $\mu\text{g}/\text{mL}$.

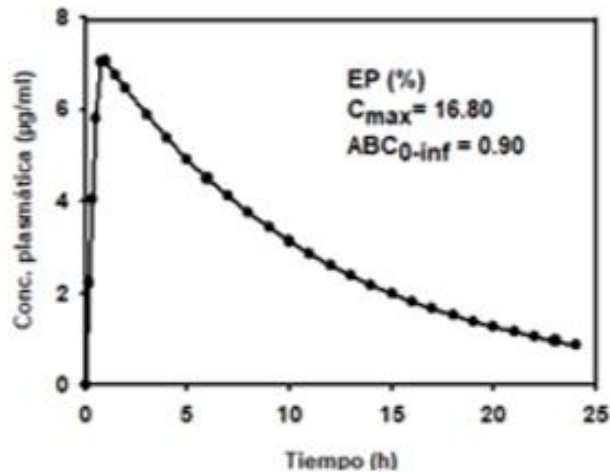


Fig 9. Perfil plasmático obtenido a partir del perfil de disolución in-vitro en Aparato 1 USP, con pH 1.2. Mediante el método de convolución.