

División de Ciencias Biológicas y de la Salud Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Informe de actividades del Servicio Social: Evaluación de la liberación in-vitro de fármacos en suspensión utilizando medios de relevancia fisiológica.

Proyecto genérico: Evaluación de productos relacionados con la salud.

Presenta:

Felipe Dino Reyes Ramírez:

Matricula: 2172028994

Asesores:

M. en C. José Raúl Medina López.

Dr. Juan Carlos Ruiz Segura



Lugar de realización: Laboratorios N-102 y N-012 de la UIDIS, UAM-Xochimilco.

Fecha de inicio del proyecto: 21/11/2022

Fecha de término del proyecto: 21/05/2023

Índice	
Introducción	3
Marco teórico.....	4
Propiedades físico químicas de las moléculas	4
Propiedades farmacocinéticas	5
Las suspensiones: Una alternativa para la administración pediátrica	5
Pruebas de disolución	6
Parámetros independientes del modelo.....	6
Parámetros dependientes del modelo.....	6
Convolución	7
Objetivos.....	8
General:	8
Específicos:.....	8
Desarrollo experimental.....	9
Productos	9
Materiales, reactivos y equipos	9
Metodología	10
Curvas de calibración.....	10
Determinación de TMP-SMX por método espectrofotométrico derivativo	11
Perfiles de disolución	11
Condiciones del equipo.....	11
Métodos independientes	12
Métodos dependientes	13
Convolución	13
Resultados y Análisis de Resultados.....	14
Curvas de Calibración	14
Determinación de TMP-SMX por método espectrofotométrico derivativo	16

Perfiles de disolución de TMP y SMX 16
Modelo independiente 19
Modelo dependiente 21
Convolución 25
Conclusiones 27
Recomendaciones 28
Referencias 29
RESUMEN..... 33

Introducción

El presente estudio tiene como objetivo principal evaluar la liberación in vitro de dos medicamentos genéricos que contienen Sulfametoxazol (SMX) y Trimetoprima (TMP) a través de la caracterización de sus perfiles de disolución. Para este propósito, se llevaron a cabo pruebas utilizando medios de disolución con medio de disolución de pH 1.2, 4.5 y 6.8 que son los representativos del tracto gastrointestinal o de relevancia fisiológica. Los ensayos de disolución se han convertido en una herramienta crucial no solo para el control de calidad, sino también como estudios preliminares a la evaluación de la bioequivalencia entre productos farmacéuticos (2).

Se evaluaron medicamentos de SMX y TMP en diferentes medios de disolución: HCl 0.1 N, solución amortiguadora (SA) de pH 4.5 y SA de pH 6.8 utilizando el aparato de minipaletas a 100 rpm. Se utilizaron tres formulaciones comerciales en suspensión (la referencia y dos productos genéricos). Los datos de disolución se analizaron mediante métodos modelo-independiente y modelo-dependiente para asegurar una comprensión completa del comportamiento de liberación de los medicamentos genéricos respecto a la referencia.

Adicionalmente, con los datos de disolución y un tratamiento matemático especial se calcularon los perfiles plasmáticos hipotéticos de ambos fármacos para estimar el impacto de los resultados en el desempeño in vivo. Los parámetros farmacocinéticos C_{max} y ABC_{0-inf} se compararon con los mismos parámetros provenientes de un estudio in vivo con el objetivo de identificar la similitud de los parámetros calculados con los valores experimentales y evaluar la aplicabilidad de las condiciones de disolución utilizadas en la comparación de las formulaciones genéricas.

Marco teórico

Propiedades fisicoquímicas de las moléculas

Sulfametoxazol (SMX): Es un antibiótico bacteriostático del grupo de las sulfonamidas, actúa inhibiendo la síntesis de ácido fólico en las bacterias, lo cual es esencial para la producción de ADN, ARN y proteínas (1).

- La estructura molecular se presenta en la Figura 1:

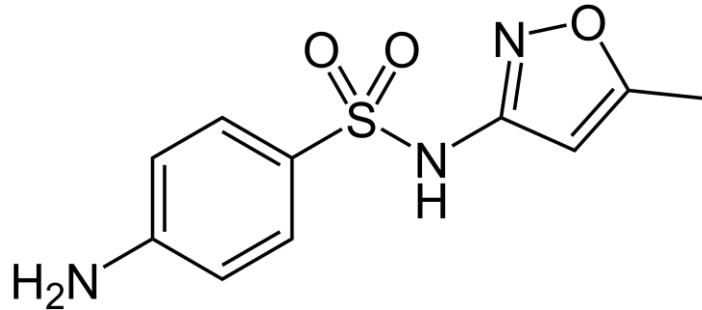


Figura 1. Estructura molecular de sulfametoxazol

- Peso molecular: 253.28 g/mol
- Solubilidad: Moderadamente soluble en agua, mejor solubilidad en soluciones ácidas.

Trimetoprima (TMP): Es un antibiótico bacteriostático que actúa inhibiendo el dihidrofolato reductasa bacteriana, lo que impide la síntesis de ácido fólico (1).

- La estructura molecular se presenta en la Figura 2:

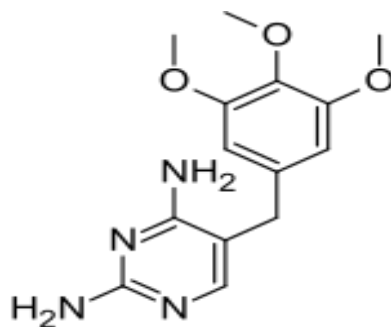


Figura 2. Estructura de trimetoprima

- Peso molecular: 290.32 g/mol
- Solubilidad: Moderadamente soluble en agua, mejor solubilidad en soluciones ácidas.

Propiedades farmacocinéticas

Sulfametoxazol (SMX):

- Absorción: Buena absorción oral, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas en 1-4 horas.
- Distribución: Volumen de distribución de aproximadamente 20 L. Se une en un 70% a proteínas plasmáticas.
- Metabolismo: Metabolizado en el hígado mediante acetilación y glucuronidación.
- Excreción: Excretado principalmente por la orina. Vida media de eliminación de 10 horas (4).

Trimetoprima (TMP):

- Absorción: Buena absorción oral, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas en 1-4 horas.
- Distribución: Volumen de distribución de aproximadamente 120 L. Se une en un 45% a proteínas plasmáticas.
- Metabolismo: Metabolizado en el hígado.
- Excreción: Excretado principalmente por la orina. Vida media de eliminación de 8-10 horas (4).

Las Suspensiones: Una alternativa para la administración pediátrica

Las suspensiones, a pesar de ser una forma farmacéutica menos común en la actualidad, aún representan una opción viable para la administración de principios activos en neonatos y niños pequeños.

Situaciones específicas para el uso de suspensiones:

- Bebés prematuros o con dificultades para deglutir: Las suspensiones pueden ser la única forma viable de administrar medicamentos a bebés prematuros o con dificultades para deglutir, ya que evitan la necesidad de administrarlos por vía oral.

- Necesidad de dosificación flexible: Las suspensiones permiten una dosificación flexible, lo que puede ser útil en pacientes que requieren ajustes de dosis individuales.

Pruebas de Disolución

Parámetros independientes del modelo

- Eficacia de disolución (ED): Es el porcentaje del área de un rectángulo descrito por el 100% de principio activo disuelto y el tiempo (14).
- Tiempo medio de disolución (TMD): Representa el tiempo al cual se disuelve el 63.2% de la dosis.
- Factor de diferencia (f1): Calcula la diferencia porcentual (%) entre las dos curvas en cada punto temporal.
- Factor de similitud (f2): Es una transformación de raíz cuadrada recíproca logarítmica de la suma del error cuadrado y es una medición de la similitud en la disolución porcentual (%) entre las dos curvas.

Parámetros dependientes del modelo

Los modelos dependientes permiten establecer el mejor ajuste de los datos de los porcentajes de fármaco disuelto, mediante el Criterio de Información Akaike (AIC) y R^2 ajustada. Los modelos más utilizados son:

Primer orden: Es aplicada cuando la superficie de la forma farmacéutica cambia durante el proceso de disolución (1). En este tipo de cinética la velocidad de disolución depende de la concentración del fármaco que se disuelve, de tal manera que, la velocidad de disolución va disminuyendo a través del tiempo (3).

Higuchi: Este modelo supone que la concentración inicial de fármaco en la matriz es mayor en comparación a su solubilidad; las partículas del fármaco son mucho más pequeñas que el grosor del sistema y la difusión de fármaco es constante. Por lo que este modelo resulta útil para explicar la liberación de diferentes sistemas de liberación modificada tales como transdérmicos y sistemas matriciales con fármacos soluble (8).

Korsmeyer Peppas: Este modelo es una relación matemática simple, la cual ayuda a determinar el mecanismo por el cual se libera un fármaco en un medio determinado. Esta relación se originó a partir del estudio de sistemas poliméricos (3).

Hixson – Crowell: Representa la aparición del soluto en la solución, estableciendo que el área regular de la partícula es proporcional a la raíz cúbica de su volumen. Este modelo afirma que la liberación de un fármaco no depende de la difusión de su contenido a través de su matriz si no de la velocidad de disolución de sus partículas. Este modelo es aplicado

a medicamentos cuya forma geométrica permite que la disolución ocurra en planos paralelos a su superficie asumiendo que las dimensiones de éstas disminuyen proporcionalmente y que mantienen constante dicha forma geométrica (5).

Makoid – Banakar: Este modelo representa el perfil de disolución de un fármaco, utilizando la cantidad de fármaco disuelto a través del tiempo. Los parámetros de la ecuación están sujetos a la restricción adicional de que la disolución total de la dosis de fármaco debe ocurrir al mismo tiempo que el valor máximo de la función (13).

Weibull: Es un modelo adaptado para los procesos de disolución y liberación. La ecuación de este modelo expresa la fracción acumulada del fármaco (m), en una disolución a tiempo (t). Sin embargo, está limitado su uso para correlaciones in vivo e in vitro.

Logístico: Es una técnica estadística multivariante que nos permite estimar la relación existente entre una variable dependiente no métrica, en particular dicotómica y un conjunto de variables independientes métricas o no métricas. Su objetivo es modelar cómo influyen las variables regresoras en la probabilidad de ocurrencia de un suceso particular (11).

Convolución

El método de convolución utiliza datos de disolución in vitro para determinar los niveles de fármaco en sangre utilizando parámetros farmacocinéticos de un producto de prueba. Cabe señalar que los parámetros farmacocinéticos requeridos se pueden obtener de la literatura científica (10). Las ventajas de este método en relación con el de deconvolución, son que la relación entre la liberación in vitro y las concentraciones plasmáticas de fármaco se establecen en un solo paso, así que el modelado se centra en la capacidad de predecir el comportamiento in vivo. Los resultados se pueden interpretar en términos del efecto de la velocidad de liberación in vitro sobre parámetros habituales de bioequivalencia (6).

Objetivos

General:

Evaluar la liberación in vitro de fármacos en suspensión utilizando medios de relevancia fisiológica.

Específicos:

- Realizar pruebas preliminares de identificación y cuantificación simultánea de SMX y TMP en HCl 0.1 N y soluciones amortiguadoras de pH 4.5 y 6.8.
- Determinar el proceso de liberación de ambos fármacos en suspensión a partir del medicamento de referencia y al menos un producto genérico con el Aparato 2 USP (paletas) en al menos dos medios de disolución de relevancia fisiológica.
- Estimar los perfiles plasmáticos de SMX y TMP por el método de convolución a partir de los datos in-vitro obtenidos.

Desarrollo Experimental

Productos

Se utilizaron los siguientes medicamentos comerciales. En la Tabla 1 se presenta la información:

Tabla 1. Productos comerciales

Producto	Laboratorio	Clave	Lote	Caducidad
Bactrim®	Weser Pharma	(R)	2205672	dic-24
Bateral®	Allen	(G1)	22103008	nov-24
Bactiver®	Maver	(G2)	233603	may-25

Materiales, reactivos y equipos

- Matraces volumétricos de 5, 10, 25, 50, 100 y 1000 ml.
- Micropipetas Eppendorf 100-1000 µL y 1-10 ml.
- Vasos de precipitados de 10, 50, 100, 250, 1000 y 2000 ml.
- Pipetas Pasteur.
- Probetas de 10, 50 y 1000 ml.
- Pizetas con agua destilada.
- Espátulas de acero inoxidable.
- Tubos de ensayo.
- Gradillas.
- Jeringas de 10 ml.
- Metanol grado reactivo J.T. Baker.
- Ácido fosfórico grado reactivo J.T. Baker.
- Ácido clorhídrico grado reactivo J.T. Baker.
- Ácido acético glacial grado reactivo J.T. Baker.

- Fosfato monobásico de potasio grado reactivo J.T. Baker.
- Fosfato dibásico de sodio grado reactivo J.T. Baker.
- Hidróxido de sodio grado reactivo J.T. Baker.
- Agua destilada.
- Estándar de SMX Sigma-Aldrich.
- Estándar de TMP Sigma-Aldrich.
- Balanza analítica Mettler AE 163.
- Balanza granataria Harvard Trip Ohaus.
- Parrilla de agitación.
- Membranas de nitrocelulosa Millipore® de 0.45 µm.
- Papel filtro Whatman® No.3.
- Espectrofotómetro UV/Vis Perkin-Elmer Lambda 35.
- Celda de cuarzo para espectrofotómetro de 1 mm.
- Disolutor automatizado USP 2 Sotax AT-7 Smart.
- Vasos para disolutor de 200 mL.
- Minipaletas para disolutor.
- Medidor de pH edge blu (HI2202-01) HANNA®.

Metodología

Se realizaron curvas de calibración y perfiles de disolución. Se utilizaron métodos modelo-independiente y -dependiente para comparar los perfiles de disolución de los productos evaluados.

Curvas de calibración

Se prepararon curvas de calibración para establecer la linealidad, precisión y selectividad del método, de la siguiente manera.

Se realizaron dos curvas de calibración, se preparó una solución estándar para cada fármaco, para el TMP se pesaron 10 mg y se vertieron en un matraz volumétrico de 50 mL junto con 1 mL de metanol RA hasta el aforo con solución de HCl 0.1 N, y soluciones amortiguadoras de pH 4.5 y 6.8. Para preparar la solución estándar de SMX se pesaron 25 mg y se vertieron en un matraz volumétrico de 25 mL junto con 1 mL de metanol RA

hasta el aforo con solución de HCl 0.1 N, y soluciones amortiguadoras de pH 4.5 y 6.8 respectivamente. Antes del aforo de cada solución estándar se colocaron los matraces con cada principio activo y el metanol RA en el baño de ultrasonido durante 5 minutos.

De la solución estándar de TMP se toman alícuotas de 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 y 1.25 mL y se vierten cada una en matraces volumétricos de 5 mL y se aforan con solución de HCl 0.1 N, de la misma manera se prepararon matraces con soluciones amortiguadoras de pH 4.5 y 6.8.

De la solución estándar de SMX se toman alícuotas de 1.225, 1.375, 1.5, 1.625 y 1.75 mL y se vertieron cada una en matraces volumétricos de 5 mL y se aforaron con solución de HCl 0.1 N de la misma forma se prepararon curvas de calibración, pero aforando con soluciones amortiguadoras de pH 4.5 y 6.8.

Determinación de TMP-SMX por método espectrofotométrico derivativo

Para la determinación de TMP-SMX se determinó el espectro de orden cero desde 240 a 320 nm.

Una vez obtenido los espectros en orden cero se procedió a obtener a calcular la primera derivada del espectro de orden cero con el fin de cuantificar de manera correcta y sin interferencia cada fármaco.

Perfiles de disolución

Condiciones del equipo

Aparato de minipaletas a 100 rpm con 200 mL de cada medio de disolución.

Se colocaron 1200 mL de solución de HCl 0.1 N en el baño de ultrasonido durante 10 minutos con la función de desgasificado antes de llenar los 6 vasos con 200 mL de medio en cada uno.

De cada vaso fueron sustituidos 2 mL de solución de HCl 0.1 N con 2 mL de suspensión (Bactrim respectivamente) y se ajustó el disolutor a 100 rpm respectivamente.

Durante 1 hora se tomaron muestras de 7 mL de cada vaso de manera manual y posteriormente a cada toma de muestra se hacía la reposición de medio.

Se tomaron muestras filtradas a los 15, 20, 30, 45 y 60 min y diluciones de estas muestras se analizaron por el método de espectrometría derivativa

Para las muestras de SMX se tomaron 4 mL de los 7 mL de cada vaso y se aforaron a 5 mL con solución de HCl 0.1 N en matraces volumétricos para posteriormente determinar los espectros de orden cero.

Para las muestras de TMP se tomaron 2 mL de los 7 mL de cada vaso y se aforaron a 5 mL con solución de HCl 0.1 N en matraces volumétricos para posteriormente calcular la respuesta en D^1 .

Se determinó la respuesta en D^1 entre 246-248 nm para TMP y 257-258 nm para SMX utilizando solución de HCl 0.1 N como blanco de ajuste para ambos fármacos, con una celda de cuarzo de 1 mm.

Posteriormente se manejó la misma metodología para las soluciones amortiguadoras pH 4.5 y 6.8.

Métodos independientes

Para comparar los perfiles de disolución, se utilizó el factor de diferencia (f_1) y el factor de similitud (f_2). Tomando al medicamento innovador como producto de referencia se usaron los valores de disolución medios de ambas curvas en cada intervalo temporal.

Para considerar los perfiles similares, los valores de f_1 estuvieron cerca de 0, y los valores de f_2 cerca de 100. Sin embargo, se dio una o tolerancia en los valores de f_1 de hasta 15 (0-15) y los valores de f_2 mayores de 50 (50-100) como lo estipula la NOM-177-SSA1-2013 y la FDA.

La eficiencia de disolución (ED%) se calculó con el programa DDSolver. El tiempo medio de disolución (TMD) se calculó a partir de las curvas acumulativas de las cantidades disueltas de fármaco con respecto al tiempo. Adicionalmente, se calculó el tiempo necesario para disolver el fármaco al 50, 80, 85 y 90%, con los parámetros a y b después de ajustar los datos de disolución a la ecuación de la hipérbola.

Métodos dependientes

Los valores obtenidos de porcentaje de disolución se ingresaron al programa DDSolver, el cual permitió realizar el ajuste de los datos a las cinéticas: Gompertz, Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin Makoid-Banakar, Weibull 2 y Logístico.

Después de llevar a cabo el ajuste se escogió el modelo matemático que mejor describió la liberación de TMP-SMX, mediante el menor valor de Criterio de Información Akaike (AIC) y el valor más alto de coeficiente de determinación ajustado (R^2). A partir del mejor modelo cinético para cada genérico y a los diferentes pHs (1.2, 4.5 y 6.8), se determinaron las constantes de velocidad de disolución.

Convolución

Empleando los datos de los perfiles de disolución del medicamento de referencia, se realizó el método de convolución. Los perfiles se convirtieron en segmentos de dosificación discretos, donde al final de cada tiempo de muestreo, la cantidad de fármaco se calculó en mg, usando la fórmula (% de liberación de fármaco x dosis / 100).

Como siguiente paso y conociendo que la cantidad de medicamento después de cada intervalo de muestreo se absorberá inmediatamente y aparecerá en la sangre, se ocupó el valor de la biodisponibilidad de SMX y TMP para calcular la cantidad de fármaco absorbido.

Después de la fase anterior comienza la fase de eliminación con una tasa de eliminación de primer orden que se calculó a partir de la vida media de estos fármacos usando la fórmula de $k_e = \ln 2 / t_{1/2}$.

Se calcularon los parámetros farmacocinéticos ($C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$ y ABC_{0-inf}) con la aplicación PKSolver a partir de los perfiles hipotéticos de concentración plasmática-tiempo obtenidos por el método de convolución. Los parámetros $C_{m\acute{a}x}$ y ABC_{0-inf} se compararon con parámetros farmacocinéticos reales a través del cálculo de predicción del error.

Resultados y Análisis de Resultados

Curvas de Calibración

La curva de calibración cumplió el criterio de aceptación con una $R^2 > 0.99$, y un %CV menor a 3%. La Tabla 2 muestra los resultados de las curvas en HCl 0.1 N, SA pH 4.5 y SA pH 6. para ambos fármacos. En la figura 3 se muestra la representación grafica de los resultados obtenidos.

Tabla 2. Resultados de las pendientes, desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (%CV) de las curvas de calibración de SMX y TMP estándar a pH

SMX	Valor	(DE)	%CV	TMP	Valor	(DE)	%CV
HCl 0.1 N							
Pendiente	-0.0011	2.84E-04	2.1	pendiente	0.9994	1.42E-04	1.6
r2	0.9979	1.13E-03	0.11	r2	0.0021	2.30E-04	0.14
SA pH 4.5							
Pendiente	-0.0004	1.41E-05	1.45	pendiente	0.002	1.41E-04	0.99
r2	0.9974	1.42E-03	0.14	r2	0.9991	1.27E-03	0.12
SA pH 6.8							
pendiente	-0.0012	2.12E-05	0.19	Pendiente	0.0025	2.13E-03	1.11
r2	0.9993	1.41E-04	1.7	r2	0.9983	2.65E-04	0.37

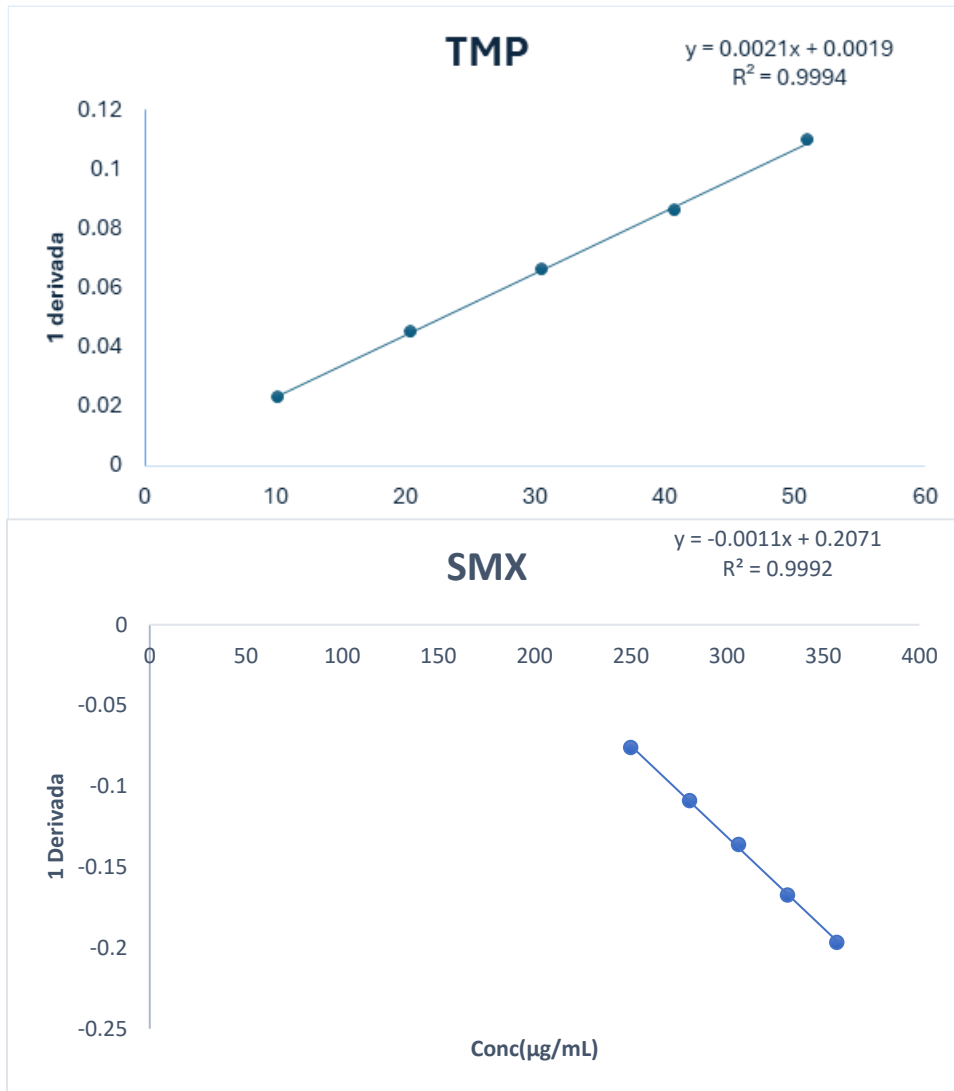
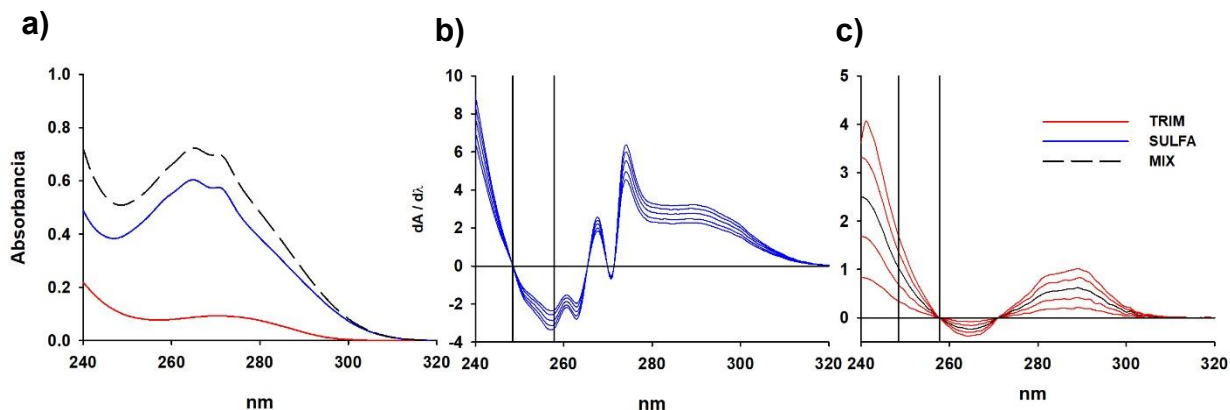


Figura 3. Curvas de calibración de SMX y TMP estándar en HCl 0.1 N.

Determinación de TMP-SMX por método espectrofotométrico derivativo

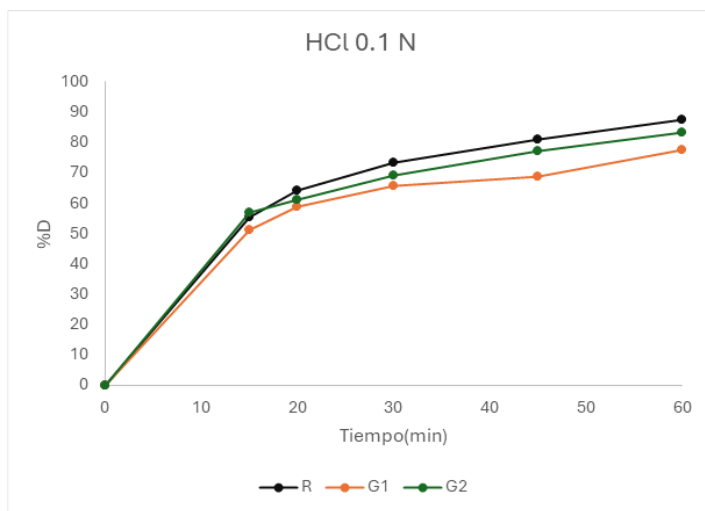
Figura 4 a) espectro de orden cero, b) primera derivada del espectro de SMX indicando



la longitud de onda en la cual la respuesta es cero (247 nm), c) primera derivada del espectro de TMP indicando la longitud de onda en la cual la respuesta es cero (258 nm).

Perfiles de disolución de TMP y SMX

En la Figura 5 y 6 se muestran los perfiles de disolución de TMP y SMX en medios de disolución HCl 0.1 N, SA pH 4.5 y SA pH 6.8.



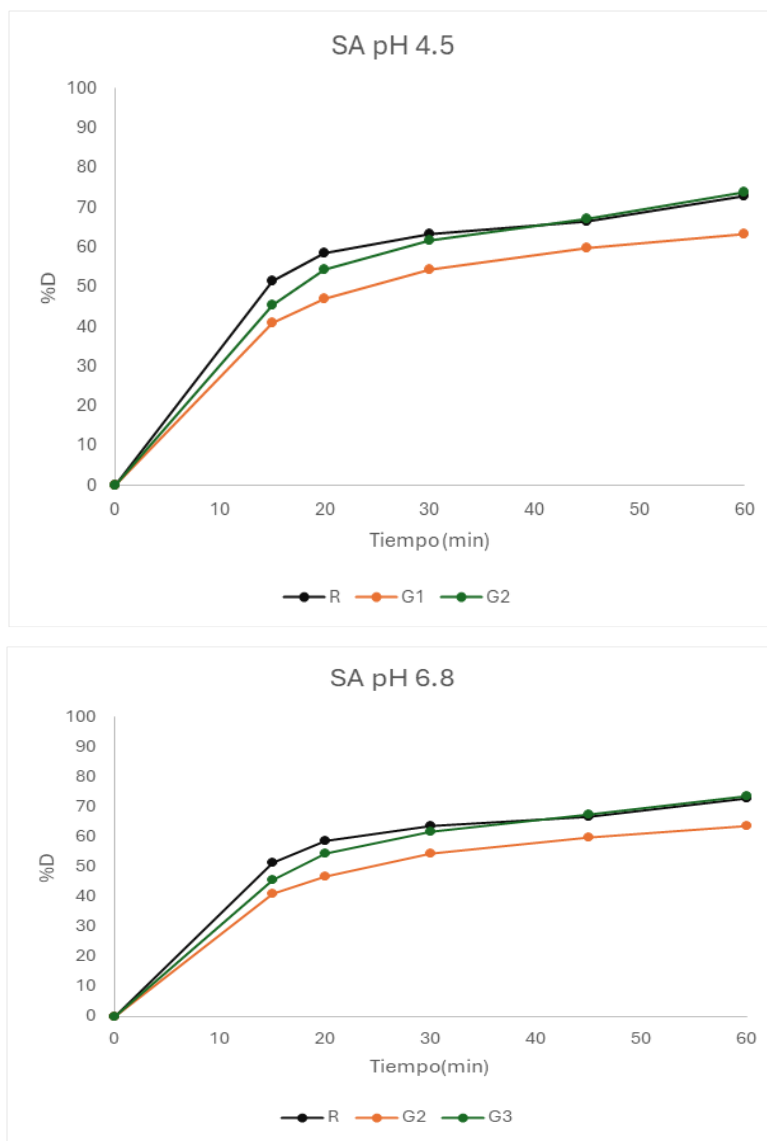


Figura 5. Perfiles de disolución de TMP en medios de relevancia fisiológica

La Figura 5 muestra el porcentaje máximo de TMP disuelto en cada medio a los 60 minutos. Se observa que el medicamento R presenta la mayor solubilidad en HCl 0.1 N, alcanzando un 87.35%, seguido del medicamento G2 con un 84.39%. El medicamento G1 presenta la menor solubilidad en este medio, con un 77.40%.

En el caso del medio SA pH 4.5, el medicamento R mantiene la mayor solubilidad con un 72.95%, seguido del producto G2 con un 72.40% y el medicamento G1 con un 63.49%.

Finalmente, en el medio SA pH 6.8, la solubilidad del TMP disminuye considerablemente para todos los medicamentos. El medicamento R presenta la mayor solubilidad con un 55.08%, seguido del medicamento G2 con un 53.14% y el producto G1 con un 50.92%.

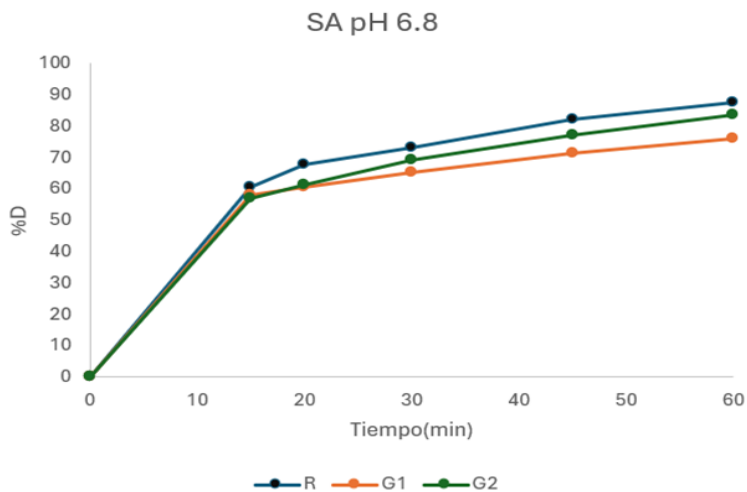
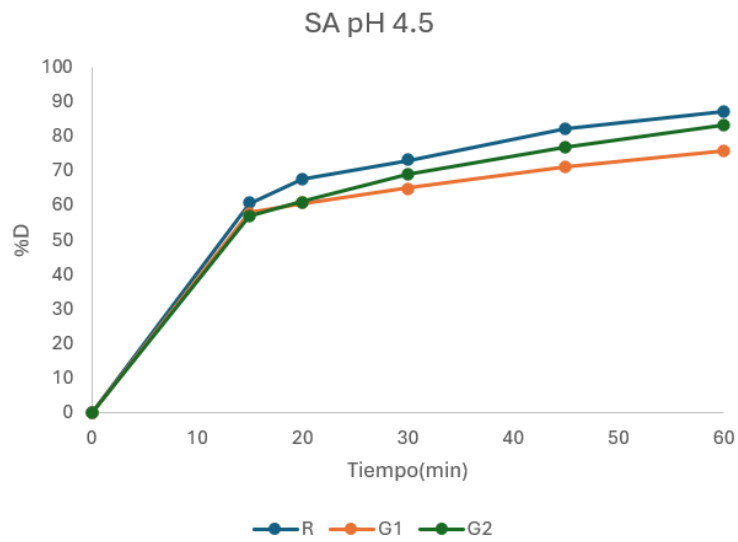
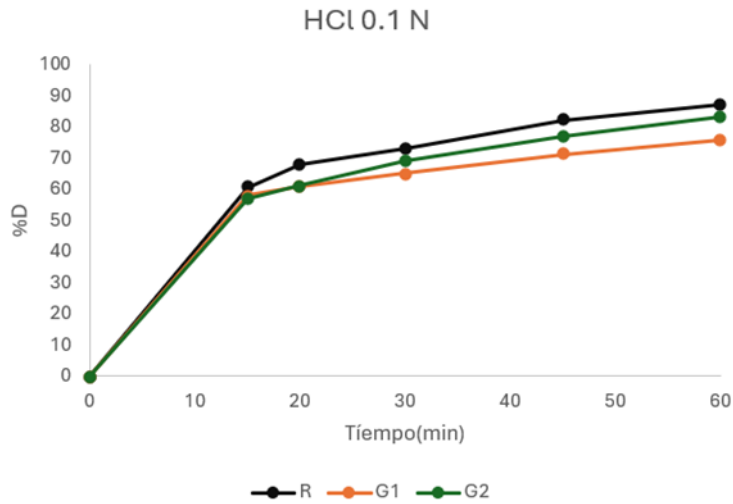


Figura 6. Perfiles de disolución de SMX en medios de relevancia fisiológica

La Figura 6 muestra el porcentaje máximo de SMX disuelto en cada medio a los 60 minutos. Se observa que el medicamento R presenta la mayor solubilidad en HCl 0.1 N, alcanzando un 87.43%, seguido del medicamento G2 con un 84.56%. El producto G1 presenta la menor solubilidad en este medio, con un 75.97%.

En el caso del medio SA pH 4.5, el medicamento de R mantiene la mayor solubilidad con un 74.95%, seguido del producto G2 con un 73.77% y el medicamento G1 con un 65.51%.

Finalmente, en el medio SA pH 6.8, la solubilidad del SMX disminuye considerablemente para todos los medicamentos. El medicamento R presenta la mayor solubilidad con un 49.56%, seguido del medicamento G2 con un 52.41% y el producto G1 con un 52.69%.

Modelo independiente

En la Tabla 3 se muestran los análisis de los perfiles de disolución de los medicamentos G1 y G2 en comparación con el medicamento R ha demostrado una similitud notable entre ellos. Esta similitud en los perfiles de disolución respalda la equivalencia farmacéutica entre los medicamentos evaluados.

Tabla 3. Resultados del factor de similitud (F2).

TMR				
Producto	Medio	F2	Criterios para F2	conclusión
G1	<i>HCl 0.1 N</i>	55.71	50-100	Si cumple
	<i>SA pH 4.5</i>	52.54		Si cumple
	<i>SA pH 6.8</i>	71.57		Si cumple
G2	<i>HCl 0.1 N</i>	64.95		Si cumple
	<i>SA pH 4.5</i>	56.94		Si cumple
	<i>SA pH 6.8</i>	68.9		Si cumple
SMX				
G1	<i>HCl 0.1 N</i>	52.95	50-100	Si cumple
	<i>pH 4.5</i>	62.85		Si cumple

	pH 6.8	58.57		Si cumple
G2	HCl 0.1 N	66.18		Si cumple
	pH 4.5	58.50		Si cumple
	pH 6.8	79.39		Si cumple

La equivalencia farmacéutica se define como la condición en la que dos medicamentos, que contienen el mismo principio activo en la misma cantidad y forma farmacéutica, cumplen con los mismos criterios de calidad, eficacia y seguridad. Los perfiles de disolución de los medicamentos G1 y G2 son similares al perfil de disolución de la referencia debido a que los resultados están dentro del rango (50-100). Tabla 3

La Tabla 4 resume los valores de los parámetros de disolución para los medicamentos G1 y G2 y el medicamento R, en los diferentes medios evaluados.

Tabla 4. *Parámetros del modelo independiente (Eficiencia de disolución, tiempo medio de disolución, y porcentaje disuelto a los 60 minutos) de ambos fármacos a distintos medios de disolución de ambos medicamentos (R, G1 y G2). Media ± EE, n=12. *p<0.05.*

	TMP			SMX		
	R	G1	G2	R	G1	G2
HCL 0.1 N						
%DISUELTO	87.35±0.	77.40±0.4	84.39±0.2	87.43±0.	75.97±0.4	83.56±0.4
60	22	3*	1	14	6*	6
TMD (MIN)	16.30±0.	16.25±0.3	17.46±0.2	15.15±0.	14.06±0.4	15.99±0.2
	16	1	3	14	2	3
DE (%)	63.62±0.	56.45±0.1	59.87±0.2	63.36±0.	58.66±0.4	61.24±0.6
	16	5*	6	18	3*	6
SA PH 4.5						

%DISUELTO	72.95±0.	63.49±0.7	72.40±0.3	74.95±0.	65.51±0.2	73.77±0.4
60	46	3*	6	38	7*	7
TMD (MIN)	14.84±0.	15.69±0.1	15.56±0.2	18.54±0.	16.92±0.1	16.65±0.5
	28	7	8	21	3*	1*
DE (%)	54.88±0.	46.86±0.4	53.62±0.3	51.78±0.	47.23±0.2	53.26±0.3
	28	1*	6	09	1*	7
SA PH 6.8						
%DISUELTO	55.08±0.	50.92±0.1	53.14±0.3	49.56±06	52.69±0.3	52.41±0.2
60	45	8	8	7	6*	9*
TMD (MIN)	13.17±0.	12.88±0.1	17.9±0.21	21.81±0.	17.33±0.3	14.62±0.1
	38	5	*	64	6	2*
DE (%)	42.96±0.	39.99±0.1	37.22±0.2	31.47±0.	37.45±0.2	39.65±0.2
	16	4	3*	14	2*	9*

Se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) en algunos parámetros para los genéricos 1 y 2, en comparación con el medicamento de referencia en el medio HCl 0.1 N, se encontraron con diferencia significativas en los valores de Q_{60} y DE para ambos fármacos del medicamento G1 y en el medicamento G2 no se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros para ambos fármacos. En el medio pH 4.5 el medicamento G1 se encontraron diferencias en Q_{30} y DE para ambos fármacos y en el producto G2 se observó una diferencia en TMD para el fármaco SMX en pH 6.8 se encontraron diferencias en todos los parámetros.

Los valores de TMD calculados se utilizaron para comparar los perfiles de disolución de los medicamentos G1 y G2 con el medicamento R. En el medio HCl 0.1 N, solo el producto G2 presenta un perfil de disolución similar al del medicamento R para ambos fármacos.

Modelo dependiente

Las Tablas 5 y 6 presentan los resultados del análisis de los perfiles de disolución de los medicamentos G1 y G2 y el medicamento R, en diferentes medios. Los datos obtenidos permitieron predecir el mejor ajuste de los valores de porcentaje de fármaco disuelto

mediante el uso de modelos matemáticos y la aplicación del Criterio de Información Akaike (AIC) y R^2 ajustado.

Tabla 5. Cinéticas de disolución de TMR en distintos medios de disolución de los medicamentos (R, G1 y G2).

TMR	Makoid-Banakar	Korsmeyr Peppas	Peppas Sahlin-	Logistic	Weibull2	Gompertz
HCl 0.1 N						
r2						
R	0.9822	0.97	0.9822	0.9881	0.9876	0.98
G1	0.9225	0.938	0.922	0.9439	0.9424	0.9437
G2	0.9667	0.9505	0.9651	0.9811	0.9743	0.9825
AIC						
R	13.7014	17.1639	13.7919	11.2733	12.3745	12.1603
G1	19.1147	17.8386	19.1868	17.8576	17.9721	17.9033
G2	18.0287	20.9073	18.3671	13.9712	16.8676	14.927
SA pH 4.5						
r2						
R	0.8933	0.9068	0.8881	0.9167	0.9132	0.9187
G1	0.9798	0.9547	0.979	0.975	0.9674	0.9802
G2	0.986	0.896	0.9809	0.9526	0.9315	0.9847
AIC						
R	18.2583	18.2087	18.4367	17.1816	17.6093	16.893
G1	10.9105	15.704	11.079	12.082	13.7115	10.7962
G2	19.0971	22.8201	11.9751	18.3472	20.5109	16.4394
SA pH 6.8						
r2						
R	0.8481	0.7202	0.8221	0.7531	0.7385	0.7686

G1	0.9515	0.8674	0.9483	0.8896	0.8799	0.9
G2	0.9667	0.9438	0.9641	0.9628	0.9549	0.9219
AIC						
R	18.0194	21.6108	18.7046	20.6035	21.0737	20.0628
G1	10.5735	17.2367	11.3444	16.2717	16.7117	15.7584
G2	13.6604	17.2409	14.3674	15.0975	16.1085	13.6368

Tabla 6. Cinéticas de disolución de SMX en distintos medios de disolución de los medicamentos (R, G1 y G2).

	Makoid - Banakar	Korsmeyer-Peppas	Peppas - Sahlin	Logisti c	Weibull 2	Gompert z
HCl 0.1 N						
r2						
R	0.9794	0.9809	0.9799	0.9713	0.9804	0.9662
G1	0.9469	0.9604	0.9543	0.9413	0.9507	0.9347
G2	0.9912	0.9969	0.9916	0.9795	0.991	0.9715
AIC						
R	13.0662	11.9588	12.9851	15.1999	13.0479	16.0649
G1	16.2933	11.0059	12.3863	13.959	12.7397	14.6496
G2	6.2959	2.3077	7.5557	13.3994	8.3485	9.1748
SA pH 4.5						
r2						
R	0.9625	0.9703	0.9588	0.9584	0.9651	0.9513
G1	0.98	0.9852	0.9796	0.982	0.9846	0.9781

G2	0.9549	0.9601	0.9502	0.9493	0.9429	0.9524
AIC						
R	16.363	15.3271	16.7297	16.5343	15.4583	17.5786
G1	7.5848	7.3081	7.6743	8.5782	8.903	10.5354
G2	14.7492	12.239	15.3603	16.9842	16.1757	17.3609
SA	pH					
6.8						
r2						
R	0.9808	0.9765	0.9678	0.9646	0.9706	0.9538
G1	0.9865	0.9548	0.9356	0.9397	0.9469	0.9302
G2	0.989	0.9897	0.9887	0.9901	0.9904	0.9889
AIC						
R	11.2719	11.4513	12.9679	13.296	12.3422	14.9017
G1	6.0787	11.1644	12.7171	12.8644	12.0506	13.9359
G2	4.1673	4.2644	4.2636	3.6547	3.4328	3.6423

Convolución

Tabla 7. Resultados de %PE para los medios: HCl pH 1.2, SA pH 4.5 y SA de pH 6.8.

TMR	SMX					
	R	G1	G2	R	G1	G2
Parámetros						
	HCl 0.1 N					
Cmax	-0.33	3.67	-5.22	4.5	17.11	8.72
AUC 0-inf	8.52	18.94	11.66	-1.24	11.93	3.33
	SA pH 4.5					
Cmax	9.45	21.08	10.07	17.77	28.28	19.29
AUC 0-inf	23.58	33.51	24.21	13.22	24.14	14.61
	SA pH 6.8					
Cmax	31.48	36.39	33.68	45.39	42.27	42.78
AUC 0-inf	42.33	46.65	44.38	42.63	38.97	39.29

En la Tabla 7 se muestra el valor de PE <15 % para C_{max} y AUC_{0-inf} de SMX y TMP para los productos farmacéuticos R y G2 solo a pH 1.2. En otras condiciones estudiadas se obtuvo PE >15 % para al menos un parámetro farmacocinético.

El aparato de minipaletas y el medio de disolución a pH 1.2 fueron adecuados para predecir el rendimiento in vivo de SMX y TMP a partir de la formulación de referencia. Estas condiciones parecen apropiadas para evaluar el rendimiento de liberación in vitro de SMX/TMP a partir de suspensiones orales de múltiples fuentes, ya que al obtener valores de PE <15 %, la probabilidad de tener niveles plasmáticos similares a los generados por la formulación R en un estudio in vivo es alta.

Es importante destacar que ambos fármacos dentro de la misma formulación deben generar valores de PE de C_{max} y AUC_{0-inf} dentro de los criterios establecidos internacionalmente para asegurar la intercambiabilidad de las suspensiones orales de SMX/TMP o al menos tener mejores posibilidades de encontrar productos

bioequivalentes. Aunque los productos farmacéuticos comerciales están disponibles para la población, siempre se recomienda la vigilancia posterior a la comercialización (2, 9) pero en caso de desarrollo de nuevas formulaciones, se necesita el uso de estudios predictivos in vitro-in silico para simular el desempeño in vivo, y lograr aceptación en el proceso de decisión regulatoria-comercialización (3). El uso y la importancia de la prueba de disolución para suspensiones orales han sido documentados por varios autores (7, 12).

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que los medicamentos genéricos evaluados presentan perfiles de disolución similares al medicamento de referencia en los tres medios de disolución utilizados cumpliendo así con los criterios de bioequivalencia establecidos.

El análisis de modelos matemáticos permitió identificar el mejor ajuste para describir el comportamiento de disolución de los medicamentos, siendo los modelos logísticos, Gompertz y Makoid-Banakar los más adecuados.

Estos hallazgos respaldan la utilización de los medicamentos genéricos como alternativas terapéuticas viables, asegurando su eficacia y seguridad comparables a las del medicamento de referencia. La equivalencia farmacéutica demostrada proporciona confianza en la intercambiabilidad de estos productos en la práctica clínica.

Recomendaciones

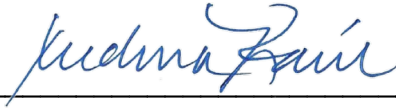
- Se recomienda la utilización de los medicamentos genéricos (G1 y G2) como alternativas terapéuticas viables al medicamento de referencia (R) con base en la equivalencia farmacéutica demostrada.
- La elección del medicamento debe realizarse siempre bajo la supervisión y asesoramiento de un profesional de la salud.
- Es esencial continuar con estudios de bioequivalencia para otros principios activos y formas farmacéuticas para asegurar la calidad y eficacia de los medicamentos genéricos disponibles en el mercado.
- Se sugiere implementar métodos estandarizados y regulados para la evaluación de perfiles de disolución que permitan comparaciones precisas y confiables entre productos farmacéuticos.

Referencias

1. Alcántara Pineda, A. (2017). Métodos Estadísticos para comparar Perfiles de Disolución requeridos por la NOM 177. Farmazine. Recuperado el 27 de Agosto de 2022, de: <https://farmazine.mx/articulos/metodos-estadisticos-para-comparar-perfiles-de-disolucion-requeridos-por-la-nom-177>
2. Anda Jáuregui, Guillermo de, Rubio Carrasco, Jung Cook, Helgi, Kenneth, & Mayet Cruz, Lourdes. (2012). Comparación de perfiles de disolución: Impacto de los criterios de diferentes agencias regulatorias en el cálculo de f_2 . Revista mexicana de ciencias farmacéuticas, 43(3), 67-71. Recuperado en 24 de marzo de 2025, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300007&lng=es&tlng=es.
3. Chen, B. K., & Yang, Y. T. (2013). Post-Marketing Surveillance of Prescription Drug Safety: Past, Present, and Future. Journal of Legal Medicine, 34(2), 193–213. <https://doi.org/10.1080/01947648.2013.800797>
4. da Silva Honório, T., Simon, A., Machado, R. M. C., Rodrigues, C. R., do Carmo, F. A., Cabral, L. M., & de Sousa, V. P. (2023). Use of In silico Methodologies to Predict the Bioavailability of Oral Suspensions: A Regulatory Approach. Current pharmaceutical design, 29(38), 3040–3049. <https://doi.org/10.2174/0113816128257028231030113156>
5. FEFAS, Organo Oficial de Difusión de la Federación Farmacéutica Sudamericana. (2002). Ensayos de disolución y sus correlaciones, in vivo - in vitro. Colegio Químico Farmacéutico de Chile. Recuperado el 27 de Diciembre de 2024, de: <http://www.fefas.org/pdf/revistaFefasNoviembre2002.pdf>
6. González Morales, A. R. (2019). Desarrollo y evaluación de comprimidos push-pull de glipizida. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. Repositorio de la Universidad Autónoma Metropolitana. Recuperado el 10 de agosto de 2022, de: <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/25079>
7. Kubota, K., Twizell, E. H., & Maibach, H. I. (1994). Drug release from a suspension with a finite dissolution rate: theory and its application to a betamethasone 17-valerate patch. Journal of pharmaceutical sciences, 83(11), 1593–1599. <https://doi.org/10.1002/jps.2600831115>

8. Nainar, S., Rajiah, K., Angamuthu, S., Prabakaran, D., & Kasibhatta, R. (2012). Biopharmaceutical Classification System Invitro/ In-vivo Correlation: Concept and Development Strategies in Drug Delivery. *Tropical Journal Of Pharmaceutical Research*, 11(2). <https://doi.org/10.4314/tjpr.v11i2.20>
9. Neves, E. O., De Sales, P. M., & Silveira, D. (2022). Post-marketing sampling and testing programs for licensed medicinal products: a narrative review. *Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 58. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e19538>
10. Paola, E. N. R., & Valeria, S. M. S. (2018). Equivalencia farmacéutica in vitro de metformina clorhidrato frente a Glucofage®. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/items/086e35d3-fbc8-4a19-aaf2-6b8e6113c7d9>
11. Medina López, José Raúl, García Lugo, Carlos Abner, Hurtado y de la Peña, Marcela, & Domínguez-Ramírez, Adriana Miriam. (2015). Estudio de liberación in vitro de ibuprofeno en grageas: influencia de la dosis y el aparato de disolución. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 46(2), 24-32. Recuperado en 24 de marzo de 2025, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952015000200024&lng=es&tlng=es.
12. Soares, T. D. S. P., De Souza, J., De Sousa Rosa, L., & Marques-Marinho, F. D. (2022). Dissolution test for oral suspension: an overview about use and importance. *Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 58. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e19423>
13. Rodriguez-Saavedra, Lennin, Cruz-Aranda, Luis, Cruz-Julca, Claudia, & Alva-Plasencia, Pedro. (2021). Calidad biofarmacéutica e intercambiabilidad de medicamentos. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 62(3), 315-327. Epub 27 de septiembre de 2021. <https://dx.doi.org/10.30827/ars.v62i3.15917>

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



M. en C. José Raúl Medina López

No. Económico: 23981



Dr. Juan Carlos Ruiz Segura

No. Económico: 40112

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: Evaluación de la liberación in-vitro de fármacos en suspensión utilizando medios de Relevancia fisiológica.

Proyecto genérico: Evaluación de productos relacionados con la salud.

Presenta:

Felipe Dino Reyes Ramírez:

Dirección: Heriberto Frías 612

Tel: 5531452207

Matricula: 2172028994

Asesores:

M. en C. José Raúl Medina López.

Dr. Juan Carlos Ruiz Segura

Lugar de realización: Laboratorios N-102 y N-012 de la UIDIS, UAM-Xochimilco.

Fecha de inicio del proyecto: 21/11/2022

Fecha de término del proyecto: 21/05/2023

RESUMEN

Introducción

El presente estudio tiene como objetivo principal evaluar la liberación in vitro de dos medicamentos genéricos que contienen Sulfametoxazol (SMX) y Trimetoprima (TMP) a través de la caracterización de sus perfiles de disolución. Para este propósito, se llevaron a cabo pruebas utilizando medios de disolución con medio de disolución de pH 1.2, 4.5 y 6.8 que son los representativos del tracto gastrointestinal o de relevancia fisiológica. Los ensayos de disolución se han convertido en una herramienta crucial no solo para el control de calidad, sino también como estudios preliminares a la evaluación de la bioequivalencia entre productos farmacéuticos (2).

Se evaluaron medicamentos de SMX y TMP en diferentes medios de disolución: HCl 0.1 N, solución amortiguadora (SA) de pH 4.5 y SA de pH 6.8 utilizando el aparato de minipaletas a 100 rpm. Se utilizaron tres formulaciones comerciales en suspensión (la referencia y dos productos genéricos). Los datos de disolución se analizaron mediante métodos modelo-independiente y modelo-dependiente para asegurar una comprensión completa del comportamiento de liberación de los medicamentos genéricos respecto a la referencia.

Adicionalmente, con los datos de disolución y un tratamiento matemático especial se calcularon los perfiles plasmáticos hipotéticos de ambos fármacos para estimar el impacto de los resultados en el desempeño in vivo. Los parámetros farmacocinéticos C_{max} y ABC_{0-inf} se compararon con los mismos parámetros provenientes de un estudio in vivo con el objetivo de identificar la similitud de los parámetros calculados con los valores experimentales y evaluar la aplicabilidad de las condiciones de disolución utilizadas en la comparación de las formulaciones genéricas.

Objetivos

General:

Evaluar la liberación in vitro de fármacos en suspensión utilizando medios de relevancia fisiológica.

Específicos:

- Realizar pruebas preliminares de identificación y cuantificación simultánea de SMX y TMP en HCl 0.1 N y soluciones amortiguadoras de pH 4.5 y 6.8.
- Determinar el proceso de liberación de ambos fármacos en suspensión a partir del medicamento de referencia y al menos un producto genérico con el Aparato 2 USP (paletas) en al menos dos medios de disolución de relevancia fisiológica.
- Estimar los perfiles plasmáticos de SMX y TMP por el método de convolución a partir de los datos in-vitro obtenidos.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que los medicamentos genéricos evaluados presentan perfiles de disolución similares al medicamento de referencia en los tres medios de disolución utilizados cumpliendo así con los criterios de bioequivalencia establecidos.

El análisis de modelos matemáticos permitió identificar el mejor ajuste para describir el comportamiento de disolución de los medicamentos, siendo los modelos logísticos, Gompertz y Makoid-Banakar los más adecuados.

Estos hallazgos respaldan la utilización de los medicamentos genéricos como alternativas terapéuticas viables, asegurando su eficacia y seguridad comparables a las del medicamento de referencia. La equivalencia farmacéutica demostrada proporciona confianza en la intercambiabilidad de estos productos en la práctica clínica.

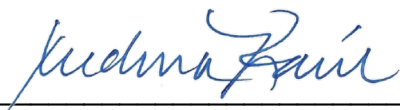
Referencias

1. Alcántara Pineda, A. (2017). Métodos Estadísticos para comparar Perfiles de Disolución requeridos por la NOM 177. Farmazine. Recuperado el 27 de Agosto de 2022, de: <https://farmazine.mx/articulos/metodos-estadisticos-para-comparar-perfiles-de-disolucion-requeridos-por-la-nom-177>

2. Anda Jáuregui, Guillermo de, Rubio Carrasco, Jung Cook, Helgi, Kenneth, & Mayet Cruz, Lourdes. (2012). Comparación de perfiles de disolución: Impacto de los criterios de diferentes agencias regulatorias en el cálculo de f_2 . *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(3), 67-71. Recuperado en 24 de marzo de 2025, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300007&lng=es&tlng=es.
3. Chen, B. K., & Yang, Y. T. (2013). Post-Marketing Surveillance of Prescription Drug Safety: Past, Present, and Future. *Journal of Legal Medicine*, 34(2), 193–213. <https://doi.org/10.1080/01947648.2013.800797>
4. da Silva Honório, T., Simon, A., Machado, R. M. C., Rodrigues, C. R., do Carmo, F. A., Cabral, L. M., & de Sousa, V. P. (2023). Use of In silico Methodologies to Predict the Bioavailability of Oral Suspensions: A Regulatory Approach. *Current pharmaceutical design*, 29(38), 3040–3049. <https://doi.org/10.2174/0113816128257028231030113156>
5. FEFAS, Organo Oficial de Difusión de la Federación Farmacéutica Sudamericana. (2002). Ensayos de disolución y sus correlaciones, in vivo - in vitro. Colegio Químico Farmacéutico de Chile. Recuperado el 27 de Diciembre de 2024, de: <http://www.fefas.org/pdf/revistaFefasNoviembre2002.pdf>
6. González Morales, A. R. (2019). Desarrollo y evaluación de comprimidos push-pull de glipizida. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. Repositorio de la Universidad Autónoma Metropolitana. Recuperado el 10 de agosto de 2022, de: <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/25079>
7. Kubota, K., Twizell, E. H., & Maibach, H. I. (1994). Drug release from a suspension with a finite dissolution rate: theory and its application to a betamethasone 17-valerate patch. *Journal of pharmaceutical sciences*, 83(11), 1593–1599. <https://doi.org/10.1002/jps.2600831115>
8. Nainar, S., Rajiah, K., Angamuthu, S., Prabakaran, D., & Kasibhatta, R. (2012). Biopharmaceutical Classification System In vitro/ In-vivo Correlation: Concept and Development Strategies in Drug Delivery. *Tropical Journal Of Pharmaceutical Research*, 11(2). <https://doi.org/10.4314/tjpr.v11i2.20>

9. Neves, E. O., De Sales, P. M., & Silveira, D. (2022). Post-marketing sampling and testing programs for licensed medicinal products: a narrative review. *Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 58. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e19538>
10. Paola, E. N. R., & Valeria, S. M. S. (2018). Equivalencia farmacéutica in vitro de metformina clorhidrato frente a Glucofage®. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/items/086e35d3-fbc8-4a19-aaf2-6b8e6113c7d9>
11. Medina López, José Raúl, García Lugo, Carlos Abner, Hurtado y de la Peña, Marcela, & Domínguez-Ramírez, Adriana Miriam. (2015). Estudio de liberación in vitro de ibuprofeno en grageas: influencia de la dosis y el aparato de disolución. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 46(2), 24-32. Recuperado en 24 de marzo de 2025, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952015000200024&lng=es&tlng=es.
12. Soares, T. D. S. P., De Souza, J., De Sousa Rosa, L., & Marques-Marinho, F. D. (2022). Dissolution test for oral suspension: an overview about use and importance. *Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 58. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e19423>
13. Rodriguez-Saavedra, Lennin, Cruz-Aranda, Luis, Cruz-Julca, Claudia, & Alva-Plasencia, Pedro. (2021). Calidad biofarmacéutica e intercambiabilidad de medicamentos. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 62(3), 315-327. Epub 27 de septiembre de 2021. <https://dx.doi.org/10.30827/ars.v62i3.15917>

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



M. en C. José Raúl Medina López

No. Económico: 23981



Dr. Juan Carlos Ruiz Segura

No. Económico: 40112