



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

DISOLUCIÓN COMPARATIVA IN
VITRO DE TABLETAS
COMERCIALES DE
FENAZOPIRIDINA
TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIATURA:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTAN:

CARLOS ALBERTO MERINO GONZÁLEZ
CRUZ AURORA PEREA ARANDA



DIRECTORA DE TESIS:
DRA. LETICIA CRUZ ANTONIO

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme llegar a esta etapa de mi vida.

Gracias mamá y papá, por hacerme crecer en un ambiente de cariño y apoyo, gracias por enseñarme a ser una mujer responsable, decidida y honesta.

A ti mamá, por tu compañía en aquellas noches interminables y en aquellas mañanas de escuela, gracias por todos tus consejos y cuidados, gracias por no dejarme sola nunca; sabes que detrás de todos mis triunfos, siempre han estado papá y tú. Gracias por confiar en mí y por darme la oportunidad de terminar una carrera.

A mis hermanos Guillermo y Adolfo, gracias por su cariño, consejos y compañía.

Gracias Carlos, por darme la oportunidad de conocerte, compartir tu vida conmigo durante más de cuatro años y por conseguir juntos un logro más. Bien sabes que sin ti nada sería igual.

A la Dra. Leticia Cruz, gracias por brindarnos la oportunidad de desarrollar este proyecto bajo su asesoría. Gracias por compartir sus conocimientos, sus consejos, su tiempo y tolerancia; gracias a Usted, hoy estamos aquí.

A mis amigos, gracias por brindarme su amistad, su compañía y sus valiosos consejos en los buenos y malos tiempos, sin ustedes la vida universitaria no hubiese sido la misma.

C. Aurora Perea Aranda

AGRADECIMIENTOS

Tras pasar 25 años recorriendo este camino llamado vida, finalmente llego a otro momento de basta satisfacción, un momento culminante que cierra una etapa importante de mi vida, una etapa que ha valido la pena desde el primer segundo como estudiante universitario hasta el último.

No podría ubicarme en este momento sin la enorme ayuda de todas las personas que conforman mi mundo, quisiera empezar esta gran lista con mis Padres; por cómo me han apoyado, por sus palabras y sabiduría, por nunca dejarme caer y buscar siempre mi bienestar. A toda mi demás familia por su interminable motivación, comprensión y confianza.

A la Dra. Leticia Cruz, por aceptar y apostar por nosotros, gracias por mostrarnos el camino de lo que un gran QFB puede llegar a ser, sin duda ha sido una experiencia completa el haber estado bajo su tutoría a lo largo de esta aventura.

A los amigos que me han acompañaron a lo largo de la carrera y después de ella, muchas gracias: Victoria, Mario, Gabriel, Jonathan, Jenny y Alejandro.

A todas y cada una de mis sinodales por su amable atención.

Y finalmente la cereza del pastel, gracias Aurora, sin ti este proyecto no hubiera sido igual y posible, gracias por permitirme acompañarte y ser parte de tu vida, se que éste es uno de los muchos éxitos que nos aguarda el destino, y que mejor manera que compartirlos contigo... No puedo contigo... no puedo sin ti...

Carlos A. Merino González

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
I. ANTECEDENTES TEÓRICOS.....	3
A. DISOLUCIÓN	3
1. <i>Importancia de la disolución.....</i>	3
a. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS)	3
B. FACTORES QUE AFECTAN EL PROCESO DE DISOLUCIÓN.....	4
1. <i>Solubilidad</i>	4
2. <i>Área de contacto y tamaño de partícula</i>	4
3. <i>Forma cristalina</i>	5
4. <i>Formulación del medicamento</i>	5
5. <i>Factores del sistema</i>	5
6. <i>Medio de disolución.....</i>	6
7. <i>Hidrodinámica</i>	6
C. APARATOS DE DISOLUCIÓN	7
D. CINÉTICA DE DISOLUCIÓN	8
1. <i>Cinética de orden cero (liberación proporcional al tiempo)</i>	8
2. <i>Cinética de orden uno (logaritmo de la cantidad liberada proporcional al tiempo)</i>	8
E. TIPOS DE MEDICAMENTOS	8
1. <i>Medicamento Innovador</i>	9
2. <i>Medicamento Genérico Intercambiable</i>	9
3. <i>Importancia de medicamentos genéricos.....</i>	9
4. <i>Cambios regulatorios.....</i>	10
F. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-177-SSA1-1998.	10
1. <i>Verificación y calibración del equipo de disolución.</i>	10
2. <i>Perfil de disolución.....</i>	10
3. <i>Validación del método analítico.</i>	11
4. <i>Evaluación de perfiles de disolución.</i>	11

5. Proyecto de NOM-177-SSA1-2008.....	11
G. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE CLORHIDRATO DE FENAZOPIRIDINA.....	12
1. Propiedades fisicoquímicas.....	12
2. Usos y administración.....	13
3. Farmacocinética	13
4. Precauciones.....	13
5. Efectos adversos	13
a. Gastrointestinales.....	13
b. Alérgicas:	13
c. Otras:.....	13
6. Presentaciones comerciales.....	14
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
III. OBJETIVOS	16
A. GENERAL.....	16
B. PARTICULARES.....	16
IV. HIPÓTESIS.....	17
V. DISEÑO EXPERIMENTAL	17
A. POBLACIÓN DE ESTUDIO	17
VI. METODOLOGÍA.....	18
A. MATERIAL	19
B. EQUIPO	19
C. ESTÁNDAR.....	19
D. REACTIVOS.....	19
E. CONTROL DE CALIDAD	20
1. Descripción.....	20
2. Ensayo de identidad	20
3. Friabilidad.....	20
4. Dureza.....	21
5. Desintegración.....	21
6. Valoración.....	21

7. Uniformidad de dosis.....	21
F. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	22
1. Parámetros de validación del sistema.....	22
a. Linealidad.....	22
b. Precisión	22
2. Parámetros de validación del método analítico.....	22
a. Linealidad.....	22
b. Exactitud	23
c. Repetibilidad	23
d. Reproducibilidad.....	23
e. Estabilidad de la muestra.....	24
f. Selectividad.....	25
g. Evaluación del filtro.	27
G. METODOLOGÍA DE LA DISOLUCIÓN	28
VII. RESULTADOS	29
A. CONTROL DE CALIDAD	29
B. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	31
1. Parámetros de validación del sistema.....	31
a. Linealidad.....	31
b. Precisión	31
2. Parámetros de validación del método analítico.....	32
a. Linealidad.....	32
b. Exactitud	33
c. Repetibilidad	34
d. Reproducibilidad.....	34
e. Estabilidad de la muestra.....	34
f. Selectividad.....	35
g. Evaluación del filtro	39
C. PERFILES DE DISOLUCIÓN	40
1. Eficiencia de la disolución (ED)	45
2. Tiempo medio de disolución (TMD).....	46
VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS	47

IX. CONCLUSIONES	52
X. SUGERENCIAS	52
XI. ANEXOS	53
A. APARATOS DE DISOLUCIÓN	53
B. PARÁMETROS DE VALIDACIÓN	55
C. PERFILES DE DISOLUCIÓN	59
D. EVALUACIÓN DE LOS PERFILES DE DISOLUCIÓN.....	61
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar y comparar los perfiles de disolución de cuatro marcas comerciales de tabletas de clorhidrato de fenazopiridina; Pimir® (medicamento de referencia), GI® de Sanofi-Aventis, GI® de Sanofi-Aventis para venta exclusiva en Farmacias del Ahorro y Urezol®.

Previamente al estudio de disolución, se hizo el control de calidad para cada marca comercial, las pruebas que se determinaron fueron; descripción, ensayo de identidad, friabilidad, dureza, desintegración, valoración y uniformidad de dosis. Los resultados obtenidos fueron similares para los cuatro grupos de tabletas y están dentro de las especificaciones que establece la regulación.

Se empleó un método analítico espectrofotométrico para la determinación del principio activo aplicable al estudio de disolución, en la validación se demostró que el sistema y método devuelven lecturas tanto precisas como lineales bajo las condiciones establecidas. También se demostró que el filtro utilizado para toma de muestra no interfirió en los resultados.

Los perfiles de disolución fueron obtenidos siguiendo lo establecido en Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 9ª edición para tabletas de fenazopiridina, excepto en los tiempos de muestreo establecidos, con la finalidad de lograr una mejor caracterización de los perfiles de disolución, así como su comparación. Los datos obtenidos de esta prueba poseían una variación alta en los primeros tiempos de muestreo y tal como lo indica la *NOM 177 SSA1 1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas, no se pudo emplear la herramienta de comparación F2, por lo que se utilizaron otras herramientas de comparación: Eficiencia de disolución y Tiempo medio de disolución. Al realizar un análisis estadístico para los resultados de estas dos pruebas se observó que había diferencias significativas entre el medicamento de referencia y los tres medicamentos genéricos.*

INTRODUCCIÓN

El clorhidrato de fenazopiridina ejerce un efecto analgésico en la mucosa del tracto urinario y es usada para proveer alivio del dolor e irritabilidad en condiciones tales como cistitis, prostatitis y uretritis. Su dosis oral usual es de alrededor de 200 mg cada 8 horas junto o después de los alimentos.

De acuerdo al sistema de Clasificación Biofarmacéutico (BCS), el clorhidrato de fenazopiridina es un fármaco clase 2 (baja solubilidad/alta permeabilidad). En el caso de fármacos de clase 2, la disolución del fármaco puede ser el paso limitante de la velocidad de absorción del fármaco, por lo que es posible encontrar correlación *in vitro-in vivo*.

En México, la prueba para obtener el perfil de disolución para fenazopiridina tabletas, se encuentra disponible en la 9ª Edición de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, donde se especifican las condiciones del método. La disolución es extremadamente importante en los sistemas farmacéuticos, especialmente en las formas farmacéuticas sólidas, el conocimiento de sus variables críticas ayuda en el desarrollo del producto, control de calidad y nuevas aplicaciones.

Hoy en día la incorporación en el mercado farmacéutico de los medicamentos denominados “genéricos” presenta un interés económico relevante, ya que el costo de un tratamiento con estos fármacos suele ser inferior al tratamiento con otros productos que contienen el mismo principio activo y en la misma forma farmacéutica, pero con denominaciones comerciales diferentes. El menor costo se debe a que la inversión económica realizada por el laboratorio farmacéutico para su desarrollo y comercialización del medicamento genérico es menor que en el caso de los innovadores.

Para poder comercializar medicamentos genéricos, se debe contar con evidencia científica basada en estudios de equivalencia terapéutica *in vivo* (estudios de bioequivalencia) o *in vitro* (perfiles de disolución), que demuestre que el medicamento genérico es similar al medicamento innovador. En México se realizan estudios *in vitro* de disolución para acreditar la eficacia y la seguridad de un medicamento (Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas).

Por ello, el objetivo de este estudio fue comparar los perfiles de disolución *in vitro* utilizando un método farmacopéico de acuerdo a la normatividad vigente, y evaluar varios parámetros de control de calidad de cuatro productos conteniendo clorhidrato de fenazopiridina (tabletas) disponibles comercialmente en México para mostrar si existe una similitud entre las formulaciones del medicamento innovador (Pirimir®) con respecto a sus denominados genéricos (GI® de Sanofi-Aventis, GI® de Sanofi-Aventis para venta exclusiva en Farmacias del Ahorro y Urezol®).

I. ANTECEDENTES TEÓRICOS

A. DISOLUCIÓN

Los fármacos en estado sólido necesitan disolverse antes de que puedan ser absorbidos; esto ocurre mediante un proceso conocido como disolución. La disolución se puede definir como la transferencia de moléculas o iones en estado sólido a una solución. (1)

1. Importancia de la disolución

Las pruebas de disolución son útiles en muchas áreas del sector farmacéutico, pueden servir para: verificar la calidad de la forma farmacéutica lote a lote, como una herramienta para desarrollar y comprobar nuevas formulaciones, y para garantizar la continuidad de la calidad y desempeño después de ciertos cambios, tales como; cambios en la formulación, procesos de manufactura y el escalamiento del proceso de manufactura. (2)

a. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS)

Para que el principio activo pueda llegar al sitio de acción, primero debe liberarse de la forma farmacéutica que lo contiene y posteriormente llegar a la circulación sistémica. La eficiencia de este proceso contribuye a la biodisponibilidad del principio activo e involucra dos pasos: la disolución de la forma farmacéutica y la absorción o permeabilidad del principio activo. Ambos conceptos están definidos en el BCS (Biopharmaceutics Classification System descrita por Amidon en 1995) y clasifica a los fármacos de acuerdo a su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal en 4 grupos (3) que se observan en la figura 1:

Clase I:	Alta solubilidad	Alta permeabilidad	
Clase II:	Baja solubilidad	Alta permeabilidad	
Clase III:	Alta solubilidad	Baja permeabilidad	
Clase IV:	Baja solubilidad	Baja permeabilidad	

Figura 1. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica propuesta por Amidon en 1995. (3)

El clorhidrato de fenazopiridina está clasificado dentro de la Clase II. Los fármacos de este grupo se caracterizan porque su disolución es el paso limitante para la absorción y también es muy posible establecer una relación *in vivo-in vitro* (IVIV). (4)

Las características del BCS (solubilidad y permeabilidad), junto con la disolución del fármaco contenido en la forma farmacéutica, toma los factores importantes que regulan la velocidad y grado de absorción del fármaco a partir del medicamento. (2,3)

El BCS es una herramienta útil para el descubrimiento y desarrollo que permite identificar los pasos limitantes de velocidad, clasificar el orden de los compuestos y para comunicar los riesgos potenciales en la formulación. El BCS se utiliza como herramienta regulatoria que identifica la correlación IVIV, además con esta clasificación, se obtienen waivers para pruebas de bioequivalencia y biodisponibilidad utilizando pruebas de disolución a pH diferentes como método principal para demostrar similaridad. (2,5)

Los waivers son diseñados para reemplazar estudios de bioequivalencia in vivo para productos de liberación inmediata por disoluciones *in vitro* y de esta forma, se pueden reducir costos y mejorar la calidad de los medicamentos. (3)

Una vez que las características de solubilidad de un fármaco son conocidas, el químico formulador basándose en el BCS, puede decidir que tecnología de liberación de fármaco será la mejor para la obtención de la óptima caracterización farmacocinética. (3)

La formulación de sistemas que son desarrollados para fármacos de Clase II se basa principalmente en micronizaciones, liofilización, adición de un surfactante, formulación como emulsiones y sistemas de microemulsiones. La disolución a menudo necesita ser desarrollada con la adición de un surfactante. (4)

B. FACTORES QUE AFECTAN EL PROCESO DE DISOLUCIÓN

1. Solubilidad

El grado de solubilidad acuosa del fármaco afecta el grado de disolución. Generalmente la sal ionizable de un fármaco es más soluble que el ácido libre o base libre. A través de una manipulación química se pueden sintetizar varias sales de un fármaco, generando así, un rango de solubilidades que van desde muy solubles en agua hasta prácticamente insolubles en agua. Además, si el fármaco está en un estado anhidro, la velocidad de disolución es usualmente más rápida que la sal hidratada. (1)

2. Área de contacto y tamaño de partícula

Un fármaco usualmente se disuelve más rápido cuando su área superficial es incrementada, es decir, cuando el tamaño de partícula se disminuye. Por esta razón, los fármacos que son pobremente solubles y que se disuelven lentamente son a menudo utilizados en forma micronizada o microcristalina, dando como resultado una absorción del fármaco más rápida, completa y en ocasiones la micronización puede incrementar al doble la velocidad de absorción. (6)

El proceso de micronización a veces incrementa dramáticamente la tendencia del fármaco a formar agregados lo cual puede guiar a una reducción del área efectiva de contacto. Este problema puede ser resuelto por la adición de un agente humectante u otros excipientes a la formulación. La superficie de contacto efectiva de un compuesto hidrofóbico puede ser incrementada por también por la adición de un agente humectante. (6)

3. Forma cristalina

Muchos fármacos pueden existir en más de una forma cristalina, cada forma cristalina es conocida como polimorfo. Los polimorfos pueden diferir sustancialmente unos de otros con respecto a ciertas propiedades físicas como la densidad, punto de fusión, solubilidad y grado de disolución. A cualquier temperatura y presión solo una forma cristalina es estable. Cualquier otro polimorfo encontrado bajo esas condiciones es considerado como metaestable que eventualmente se convertirá en la forma estable. El polimorfo metaestable es una forma de alta energía del fármaco que usualmente tiene un punto de fusión menor, gran solubilidad y mayor grado de disolución que la forma cristalina estable. (6)

Algunos fármacos también pueden encontrarse en una forma amorfa. La energía requerida para que una molécula de fármaco pase de un arreglo cristalino a un estado solvatado es mucho mayor que la que requiere un sólido amorfo. (6)

4. Formulación del medicamento

Cuando un medicamento es formulado como una tableta comprimida, hay una reducción enorme del área de superficie de contacto efectiva del fármaco debido a los procesos de granulación y compresión. Estos procesos necesitan la adición de excipientes que ayuden tanto al proceso de fabricación como el de disolución. Los excipientes también pueden afectar la cinética de disolución del fármaco; pueden alterar el medio donde se disolverá el fármaco o pueden reaccionar con el fármaco. (6)

La presión y velocidad de compactación usada en la tableteadora, las condiciones de almacenamiento y la caducidad del medicamento también pueden afectar el proceso de disolución. (6)

Los lubricantes de las tabletas como estearato de magnesio pueden repeler el agua y reducir la disolución cuando se utiliza en grandes cantidades. Bajas concentraciones de surfactante disminuyen la tensión superficial e incrementan el grado de disolución, mientras que altas concentraciones de surfactante tienden a formar micelios con el fármaco por lo que disminuye el grado de disolución. Los excipientes como agentes suspensores, incrementan la viscosidad y por ello disminuye el grado de disolución de suspensiones. (1)

Algunos excipientes como el bicarbonato de sodio pueden cambiar el pH de la superficie. Un fármaco ácido en medio alcalino, provocará la formación de una sal soluble en agua que se disolverá rápidamente. Este tipo de proceso es llamado disolución en un medio reactivo. (1)

Otros excipientes pueden interactuar directamente con el fármaco para formar un complejo soluble en agua o insoluble en agua. (1)

5. Factores del sistema

Para llevar a cabo la prueba de disolución, se requiere una temperatura constante a 37°C (para simular la temperatura del cuerpo humano), un incremento de temperatura incrementará la energía cinética de las moléculas aumentando el coeficiente de difusión. (1)

Dentro del sistema de disolución la agitación debe ser constante, un incremento en la agitación del medio de disolución reducirá el grosor de la capa de difusión permitiendo una disolución del fármaco más rápida. (1)

El gas disuelto en el medio de disolución puede formar burbujas de aire en la superficie de la unidad de la forma farmacéutica y puede afectar en la disolución. (1)

El coeficiente de difusión es inversamente proporcional a la viscosidad del medio, el aumento de la viscosidad del medio de disolución disminuye la velocidad de disolución del sólido. Si la concentración del principio activo es muy elevada, se puede modificar la viscosidad del disolvente. (7)

6. Medio de disolución

Un parámetro importante para realizar estudios de disolución es el medio de disolución, éste se escoge de acuerdo a las características fisicoquímicas del fármaco y al medio ambiente en donde se expondrá la forma farmacéutica después de su administración oral. (8)

Los estudios de disolución deben realizarse de ser posible simulando las condiciones del tracto gastrointestinal, se desean condiciones sink, pero no son obligatorias, generalmente se utiliza un volumen de medio de disolución de 500, 900 o 1000 mL. El pH del medio de disolución debe estar comprendido entre valores de 1.2 y 6.8 (la fuerza iónica de los buffers debe ser igual a la señalada en la USP), el pH para simular el del fluido intestinal debe ser de 6.8, si se emplea un pH mayor debe justificarse pero no deberá exceder un pH de 8. Cuando se requiera simular fluido gástrico, se debe emplear una solución con un pH de 1.2 sin enzimas, la necesidad de emplear una solución con enzimas debe evaluarse caso por caso y debe ser justificada, actualmente se emplea la solución de enzimas (pepsina y/o pancreatina) para disolver las películas que conforman las cápsulas de gelatina. (8)

El uso de agua como medio de disolución tiene sus desventajas, ya que se puede alterar el pH del medio de disolución o modificar la tensión superficial a causa del principio activo y/o los excipientes de la formulación y así influir en la velocidad de disolución del fármaco, por lo tanto el empleo de agua como medio de disolución se debe probar y justificar. Cuando existen fármacos insolubles o poco solubles en agua se pueden emplear surfactantes justificando su uso y cantidad. (8)

7. Hidrodinámica

El Aparato USP II es el dispositivo comúnmente utilizado para llevar a cabo las pruebas de disolución en la industria farmacéutica. A pesar de su uso generalizado, las pruebas de disolución siguen siendo susceptibles a errores significativos y fallos de las pruebas, además, dispone de información limitada sobre la hidrodinámica de este aparato. (9)

El flujo en el Aparato USP II está fuertemente dominado por la componente tangencial de la velocidad. Los flujos secundarios consisten en un circuito de recirculación superior e inferior en el plano vertical por encima y por debajo del rodete, respectivamente. Durante el desarrollo de la prueba de disolución existe una zona de recirculación baja en la parte inferior del fondo del recipiente semiesférico donde el proceso de disolución de la tableta se lleva a cabo. Las velocidades radiales y axiales en la región justo por debajo del impulsor son muy pequeñas. Esta región es la más crítica del aparato puesto que el comprimido de disolución probablemente esté en este lugar durante un ensayo de disolución. (9)

Las velocidades en esta región cambian significativamente en cortas distancias a lo largo del fondo del recipiente, implicando pequeñas variaciones en la ubicación de la tableta en la parte inferior del vaso, causada

por el descenso aleatorio de la tableta a través del líquido, y es probable que resulte en las velocidades significativamente diferentes al igual que los gradientes de velocidad cerca de la tableta. Esto comúnmente introduce variabilidad en la prueba. (9)

Se ha determinado que las fuerzas de corte dentro del vaso representan un importante factor de disolución ya que controlan el espesor de la capa que limita la velocidad de transferencia de masa en la tableta y en la superficie de las partículas. En estudios recientes se ha observado que estas fuerzas de corte son altamente heterogéneas en el Aparato USP II, además, la velocidad de disolución de una liberación constante de principio activo incrementa con el aumento de velocidad de agitación y la distancia del centro del fondo del vaso del aparato. (10)

C. APARATOS DE DISOLUCIÓN

Para realizar estudios de disolución existen diferentes aparatos para llevar a cabo esta prueba y cada uno se opera bajo condiciones específicas. En la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP), se les asigna el nombre de aparatos compendiales, los hay desde el aparato 1 hasta el 7. (11,12)

El aparato 1 o de canastilla consiste en una canastilla hecha con una malla de alambre inerte que está unida a un eje de rotación, el cual se sumerge durante la prueba en un vaso que contiene el medio de disolución. Este aparato generalmente se utiliza para formas farmacéuticas que tienden a flotar como lo son las cápsulas, o para formas farmacéuticas que se desintegren lentamente. (13, 14)

El aparato 2 o de paletas está conformado por una paleta inerte diseñada para minimizar la turbulencia debido a la agitación, la paleta está unida verticalmente a un motor de velocidad variable que gira a una velocidad controlada, que se sumerge en un vaso con capacidad de 1 L. Generalmente el método de paletas es la primera opción para hacer estudios de disolución a formas farmacéuticas de liberación inmediata. Este método es muy sensible a la inclinación de la paleta, un cambio en la inclinación causa grandes cambios en la disolución de la forma farmacéutica. En este equipo se pueden utilizar sinkers, que son alambres de platino o material inerte que tiene como objetivo evitar que la cápsula o tableta flote, se adhiera a las paredes del vaso del disolutor o se adhiera a la paleta. (15)

El aparato 3, de cilindros recíprocos, o Bio-dis por su disolución biorrelevante, está compuesto por una fila de cilindros sumergibles donde se deposita la forma farmacéutica, estos atraviesan mecánicamente seis filas que contienen los cilindros llenos de medio de disolución donde se sumergirán las muestras. Este aparato ha sido utilizado exitosamente en estudios de tabletas, cápsulas, perlas y otras formas farmacéuticas de liberación prolongada que requieren la exposición a diferentes medios de disolución que simulen el tránsito por el tracto gastrointestinal. Los vasos donde se sumergen los cilindros recíprocos tienen la capacidad de 300 mL y para un correcto funcionamiento debe haber al menos 150 mL de medio de disolución. Cabe señalar que con este aparato se pueden obtener condiciones sink. (16)

El aparato de celdas de flujo continuo o Aparato 4, fue desarrollado para exponer formas farmacéuticas de liberación prolongada además de baja solubilidad a condiciones gastrointestinales simuladas y es muy adecuado cuando se requiere un gradiente de pH. Con este aparato se han realizado estudios de disolución de cápsulas, polvos, tabletas, implantes y supositorios, en un amplio rango de volúmenes de medio de disolución. (16, 17)

Los aparatos 5 y 6 fueron desarrollados para sistemas transdermales, el aparato 5 (paleta sobre disco) se caracteriza por tener un disco de acero diseñado para sostener al dispositivo transdermal en el fondo del vaso del disolutor, la superficie de liberación se encuentra también paralela a la parte inferior de la paleta del disolutor. El aparato 6 de disolución o conocido también como cilindro rotatorio, consiste en un elemento cilíndrico de agitación con la unidad transdérmica unida a la parte exterior del cilindro. (16, 18)

El aparato 7 (soporte de oscilación vertical) originalmente fue introducido a la USP como una opción para parches transdérmicos pequeños, su nombre original fue el de aparato de disco recíprocante, luego de que se agregaran cuatro agarraderas para sostener sistemas transdérmicos, bombas osmóticas y otros sistemas de liberación de dosis bajas, su nombre cambió al descrito al inicio del párrafo, puede operar con un volumen de 5 mL hasta 400 mL, en la actualidad este equipo reta a los equipos tradicionales para aquellas formas farmacéuticas que contienen bajas dosis. (16, 19)

Las figuras de los aparatos de disolución se muestran en el anexo A.

D. CINÉTICA DE DISOLUCIÓN

El proceso de disolución puede ser explicado a través de su cinética. La cinética de la disolución se establece determinando la concentración de la disolución en función del tiempo en puntos alejados del lugar donde se disuelve el sólido, es decir, al tomar la muestra, la solución debe ser homogénea para que tal forma refleje fielmente la liberación del soluto a partir de la forma sólida. Los procesos de liberación de fármacos pueden ser caracterizados por la velocidad a la cual son liberados de la forma farmacéutica en función del tiempo. Con base a lo anterior dos cinéticas son generalmente descritas. (20,21)

1. Cinética de orden cero

En una reacción de orden cero la velocidad es constante e independiente de la cantidad de soluto presente. Generalmente las formas farmacéuticas de liberación modificada siguen esta cinética de disolución. (20,21)

2. Cinética de orden uno

Para una reacción de orden uno la velocidad es proporcional a la cantidad que permanece por disolver; la liberación del soluto disminuye con el tiempo de manera exponencial. Este tipo de cinética la siguen generalmente las formas farmacéuticas de liberación inmediata y/o aquellas que contienen fármacos hidrosolubles en una matriz porosa. (20,21)

E. TIPOS DE MEDICAMENTOS

Un medicamento es toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural o sintético que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica y se identifique como tal por su actividad farmacológica, características físicas, químicas y biológicas. (22)

1. Medicamento Innovador

Es aquel medicamento que resulta de un proceso de investigación, que está protegido por una patente original a nivel mundial y es fabricado exclusivamente por el laboratorio farmacéutico que lo desarrolló. Se denominan por el nombre de la sustancia activa y por un nombre o marca comercial. (23,24)

2. Medicamento Genérico Intercambiable

Es la especialidad farmacéutica con el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que utiliza la misma vía de administración y con especificaciones farmacopeicas iguales o comparables, que después de cumplir con las pruebas reglamentarias requeridas, ha comprobado que sus perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otros parámetros, según sea el caso, son equivalentes a las del medicamento innovador o producto de referencia, y que se encuentra registrado en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, y se identifica con su denominación genérica. (23)

3. Importancia de medicamentos genéricos

Los medicamentos genéricos representan grandes ventajas en reducción al gasto en la seguridad social pública o en la medicina privada de un país, pero su uso trae consigo importantes retos para los organismos regulatorios. (25)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) propone que en materia de política pública relacionada con productos farmacéuticos deben identificarse tres objetivos instrumentales: i) garantizar la seguridad y eficacia de los medicamentos; ii) promover que los medicamentos estén disponibles en el momento en que se requieran, que no existan barreras para su acceso y que el gasto en medicamentos sea óptimo, y iii) promover la introducción al mercado de nuevas alternativas terapéuticas. (25)

En México, el precio de los medicamentos innovadores en el mercado privado es regulado por la Secretaría de Comercio, y su control de precios radica en que para cada producto, el precio máximo al menudeo no debe exceder un precio internacional de referencia estimado como el promedio del precio observado en seis mercados principales. Aunque el valor máximo de los medicamentos innovadores es regulado, el precio inferior depende de la demanda, es decir, depende de las preferencias, percepción, poder de compra y de las necesidades de salud del consumidor. El productor con la patente podrá establecer mayores precios en la medida en que haya pocos sustitutos terapéuticos, o precios menores cuando el número de sustitutos sea mayor. (25)

Cuando vence la patente de la molécula o fármaco de los medicamentos innovadores, otras industrias farmacéuticas pueden comercializar dicho fármaco en forma de medicamento genérico. Puesto que la molécula activa ya ha sido probada desde el punto de vista de seguridad y eficacia, resultando un éxito económico; la industria farmacéutica de medicamentos genéricos no requiere invertir en estudios de investigación y desarrollo, por lo tanto la inversión económica es menor y el medicamento genérico es de menor costo. Sin embargo, la industria farmacéutica de medicamentos genéricos debe cumplir con los parámetros de calidad en la elaboración del medicamento que imponen los respectivos órganos reguladores de los diferentes países. En México, la mayoría de las pruebas de calidad se realizan en el laboratorio, pero hay pruebas que deben realizarse en humanos con el fin de garantizar que el medicamento genérico alcanza la ventana terapéutica,

como lo ha mostrado el medicamento innovador, es decir, el medicamento genérico tiene que demostrar que es bioequivalente al innovador. Por lo tanto, en México sólo existen 2 tipos de medicamentos, los medicamentos innovadores conocidos como medicamentos de patente, y los medicamentos genéricos (desapareciendo el término de “medicamento genérico intercambiable”). (25)

4. Cambios regulatorios

En Febrero de 2005 se modifica el Art. 376 de la Ley General de Salud, las modificaciones se centran en la vigencia de los registros sanitarios y en que solo deben de existir dos tipos de medicamentos: originales o innovadores (que mantienen la misma definición) y los genéricos. (26)

En Enero de 2008 se publica la modificación al RIS, en consecuencia desaparece el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, se publican las nuevas condiciones para solicitar el registro sanitario de los medicamentos, así como las condiciones para solicitar la prórroga del registro sanitario. (26)

Bajo este contexto, un medicamento genérico es la especialidad farmacéutica con el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que utiliza la misma vía de administración y que mediante 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. (27)

E. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-177-SSA1-1998.

1. Verificación y calibración del equipo de disolución

En la norma se plantea que debe hacerse una verificación y calibración del equipo de disolución, el cual debe de cumplir con las dimensiones y especificaciones que estén de acuerdo con la normatividad vigente. Se debe evaluar la confiabilidad del equipo con tabletas calibradoras certificadas, y cuyos resultados deberán estar dentro de los límites de aceptación. También se debe evaluar la magnitud de la vibración del equipo, y asegurar que este dentro de las especificaciones. (23)

2. Perfil de disolución

Para realizar un perfil de disolución, deben emplearse 12 unidades de prueba, tanto del medicamento de referencia como el de prueba. El método de evaluación del perfil de disolución debe estar registrado por escrito antes de realizarse el estudio, incluyendo las condiciones experimentales. Las condiciones experimentales deberán ser las que aparecen en la FEUM, o en otras Farmacopeas reconocidas internacionalmente. (23)

Al menos cinco tiempos de muestreo deben seleccionarse para caracterizar apropiadamente la curva ascendente y la fase de meseta del perfil, exceptuando el tiempo cero, los muestreos deben ser de acuerdo al método de evaluación. El volumen extraído puede o no ser reemplazado, en caso de que no se reemplace, no se debe extraer más del 10 % de medio de disolución. (23)

3. Validación del método analítico

Cuando hablamos de validación, nos referimos al método científico que proporciona la evidencia documental para demostrar la confiabilidad, reproducibilidad y efectividad de cualquier operación o proceso. (23)

La validación del método analítico es un procedimiento para establecer, por medio de estudios de laboratorio, una base de datos que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales. (28)

El método analítico empleado para determinar la cantidad de fármaco disuelto en el estudio, debe estar validado, tanto en el sistema, así como en el método. Los parámetros de sistema a validar son: linealidad y precisión. Los parámetros a validar para el método son: linealidad, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), estabilidad de la muestra, selectividad. Si se tienen disponibles los placebos de los medicamentos, realizar la validación mediante el porcentaje de recuperación; cuando no sea posible obtener los placebos del medicamento de prueba o del de referencia, realizar la validación mediante el método de estándar adicionado. (23)

4. Evaluación de perfiles de disolución

Para la evaluación de los perfiles de disolución, el porcentaje disuelto de cada medicamento debe calcularse con respecto a la dosis nominal del fármaco, y se reportaran los porcentajes disueltos a cada tiempo de muestreo, porcentajes promedios disueltos, coeficientes de variación (CV), valores máximo y mínimo, graficar los porcentajes promedios disueltos y los de cada unidad de dosificación contra el tiempo. (23)

La norma establece utilizar el factor de similitud (F2) para la comparación de los perfiles, cuando el CV del porcentaje disuelto es menor o igual que el 20 % para el primer tiempo de muestreo y menor o igual que el 10 % para los tiempos subsecuentes. (23)

5. Proyecto NOM-177-SSA1-2008

Actualmente en México existe un proyecto de Norma Oficial Mexicana que sustituirá a la NOM-177-SSA1-1998. Ésta se encontrará vigente, una vez que las autoridades competentes lo dictaminen. En este proyecto de norma hay varios cambios en cuanto a pruebas de disolución, estos cambios contemplan las condiciones que deben establecerse cuando se utiliza un estudio de disolución para demostrar intercambiabilidad entre medicamentos y nuevas consideraciones en cuanto a la validación del método analítico. (27)

Cuando se quiere evaluar la intercambiabilidad de un medicamento, el proyecto de NOM-177-SSA1-2008 establece que el método analítico para la cuantificación de las muestras debe ser validado por un tercero autorizado en el sitio de análisis. Establece también que aquellos métodos de disolución que se desarrollen en 3 diferentes niveles de pH, emplearan como medio de disolución, solución 0.1N de ácido clorhídrico o fluido gástrico simulado sin enzima, solución reguladora pH 4.5 y solución reguladora pH 6.8 o fluido intestinal simulado sin enzima, cuando la forma farmacéutica sean cápsulas o tabletas con cubierta de gelatina se puede emplear fluido gástrico o intestinal con enzima.(27)

La validación del método analítico se realizara en dos partes, validación con el fármaco; que contempla los parámetros de: linealidad, precisión, estabilidad de la muestra y evaluación del filtro; y la validación con el medicamento (tanto medicamento de referencia, como el de prueba) que indica parámetros como: linealidad, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad interlaboratorio), selectividad. (27)

F. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE CLORHIDRATO DE FENAZOPIRIDINA

1. Propiedades fisicoquímicas

- ❑ Clorhidrato de fenazopiridina; 3-(Fenilazo)-2,6-piridindiamina. (29)
- ❑ Otros nombres: Fenazo; Piridacil; Pyridium. Es un ingrediente del Azo Gantanol, Azo Gantrisin, Azo-Mandelamina, Azotrex, y Uromida. (29)
- ❑ Fórmula estructural (30), figura 2:

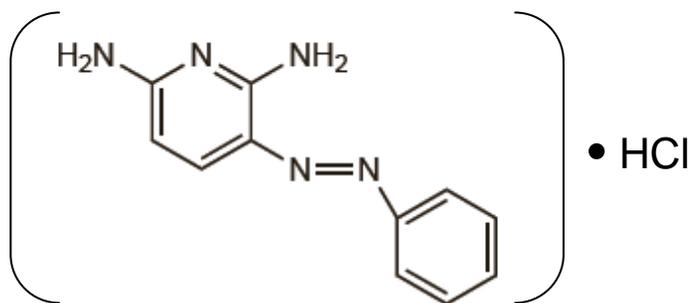


Figura 2. Fórmula estructural del Clorhidrato de fenazopiridina

- ❑ Fórmula condensada: $C_{11}H_{11}N_5 \cdot HCl$ (30)
- ❑ Peso molecular: 249.7g/mol (30)
- ❑ Punto de fusión: 139°C (29)
- ❑ $UV_{m\acute{a}x}$: 238-240 nm $\xi = 2.2 \times 10^4$, 390-392 nm $\xi = 2.4 \times 10^4$, disolvente: alcohol acidificado. (31)
- ❑ Características organolépticas: polvo fino cristalino color rojo o morado oscuro. Inodoro o ligeramente con olor. (29)
- ❑ Solubilidad: 1 en 300 de agua fría, 1 en 20 de agua caliente, 1 en 60 de etanol y 1 en 330 de cloroformo, muy ligeramente soluble en éter, soluble en acido acético glacial. Una solución acuosa de clorhidrato de fenazopiridina en almacenamiento forma lentamente una solución sobresaturada con depósitos. (29)
- ❑ Coeficiente de partición: Log P (octanol/agua), 2.8. (29)

2. Usos y administración

La fenazopiridina ejerce un efecto analgésico en la mucosa del tracto urinario y es usada para proveer alivio del dolor e irritabilidad en condiciones tales como cistitis, prostatitis y uretritis. La dosis oral recomendada es de 200 mg, tres veces diariamente después de comer. (30)

3. Farmacocinética

Se absorbe en el tracto gastrointestinal. Es excretado principalmente en la orina: arriba del 65% puede ser excretado como fenazopiridina inalterada y 18% como paracetamol. Se han encontrado datos farmacocinéticos en ratas tales como: $T_{max} = (0.35 \pm 0.01)$ h, $C_{max} = (0.396 \pm 0.079)$ $\mu\text{g/ml}$, $AUC = (0.373 \pm 0.065)$ h $\mu\text{g/ml}$ y $CL = (94.2 \pm 5.9)$ ml/g/h. (32)

4. Precauciones

Está contraindicado en pacientes con daño renal o hepatitis severa, puede ser usado con precaución en aquellos con deficiencia de G6PD (Glucosa-6-fosfato). Se debe advertir a los pacientes de no exponerse a los rayos solares durante el tratamiento, a efecto de evitar reacciones de fotosensibilidad; si éstas llegaran a presentarse, debe suspenderse la terapia. Los pacientes pueden llegar a presentar coloración anaranjado-rojiza de la orina, situación que deberá ser advertida. (30)

Debe tomarse en consideración la disminución de la función renal asociada con la edad avanzada. Una tinción amarillenta de la piel y escleróticas puede indicar acumulación debida a excreción renal dañada y la necesidad de discontinuar la terapia. (30)

5. Efectos adversos

a. Gastrointestinales: Dispepsia, dolor abdominal, náusea, vómito y diarrea. (30)

b. Alérgicas: Rash, prurito, urticaria, angioedema, eosinofilia, rigidez de las articulaciones y en raras ocasiones reacciones de tipo anafiláctico. Las reacciones de fotosensibilidad, principalmente en áreas de piel expuestas, desaparecen en cuanto se suspende el tratamiento. (30)

c. Otras: En raras ocasiones se han presentado colestasis, parestesia, acidosis metabólica, trombocitopenia, leucopenia o anemia hemolítica, que en algunos pacientes puede estar asociada con una deficiencia en la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, produce un color naranja a rojizo en la orina y puede producir manchas. (30)

6. Presentaciones comerciales

A continuación se presentan las presentaciones que se comercializan en el mercado mexicano

Tabla 1. Presentaciones comerciales de tabletas de HCl de fenazopiridina

Medicamento	Laboratorio	Presentación	Tipo de medicamento	Precio (Pesos)*
Pimir (Fenazopiridina)	Sanofi Aventis	20 tabletas, 100 mg	Innovador	87.00
Fenazopiridina	Bioreserach	10, 20 y 24 tabletas, 100 mg	Genérico	No disponible
(Urezol) Fenazopiridina	Mavi Farmacéutica	20 tabletas, 100 mg	Genérico	15.00
Fenazopiridina	Química y Farmacia	20 tabletas, 100 mg	Genérico	No disponible
Fenazopiridina	Sanofi Aventis	20 tabletas, 100 mg	Genérico	29.00 y 37.00

*Los precios fueron consultados en Abril de 2011

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las diferencias en cuanto al uso entre medicamentos genéricos e innovadores aún hoy en día siguen provocando polémicas que generan dudas entre pacientes y profesionales. Los productos genéricos e innovadores teóricamente no difieren en cuanto a las garantías de calidad químico-farmacéutica (composición, proceso de fabricación, estabilidad, impurezas, entre otras) que deben presentar ante la Secretaría de Salud, siendo necesario el cumplimiento idéntico de requisitos demostrados por una documentación completa y propia.

En tanto, el estándar más conocido para acreditar la eficacia y la seguridad de un medicamento es a través de ensayos clínicos adecuadamente diseñados, sin embargo, existen otras alternativas para que los medicamentos puedan acreditar este rubro; en nuestro país por ejemplo, a través de estudios *in vitro* de disolución (Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998). La calidad de una forma farmacéutica es un factor determinante para la eficacia y seguridad del producto. La calidad del producto se refiere a su conformidad con estándares previamente establecidos para el objetivo deseado. Para el caso de tabletas de fenazopiridina, existen cinco marcas comerciales en nuestro país, donde la diferencia en precios entre el producto innovador y los genéricos es hasta de un 200 %, la cual no se debe relacionar a diferencias provenientes de la fabricación del producto, ya que como se menciono inicialmente por principio cumple con estándares idénticos sea cual sea el tipo o tamaño de compañía (NOM-059-SSA1-2006, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos). De hecho, hay compañías de medicamentos innovadores que producen sus propios genéricos y es habitual también que un laboratorio de genéricos fabrique para otros, de manera que los productos comercializados por las compañías de genéricos no son siempre fabricados por ellos mismos. Éste es el caso para tabletas convencionales de fenazopiridina.

Ante este contexto el presente estudio está planteado para evaluar varios parámetros de control de calidad incluyendo el perfil de disolución *in vitro*, para cuatro formulaciones comerciales de tabletas de fenazopiridina, como una evidencia para mostrar la similitud entre las formulaciones.

III. OBJETIVOS

A. GENERAL

Evaluar y comparar las características de calidad farmacéutica incluyendo el comportamiento de disolución in vitro de varios productos de tabletas de fenazopiridina del mercado nacional conforme lo marca la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 9 edición (FEUM 9º ed).

B. PARTICULARES

- ❑ Evaluar la calidad como producto terminado de un solo lote de 4 marcas comerciales de tabletas de 100 mg de fenazopiridina.
- ❑ Validar el método analítico para la determinación de la fenazopiridina disuelta en cada perfil de disolución.
- ❑ Obtener el perfil de disolución de las tabletas de fenazopiridina empleando el Aparato II que marca la FEUM 9º ed.
- ❑ Comparar los perfiles de disolución mediante modelos estadísticos independientes de cinética.

IV. HIPÓTESIS

Conforme a las definiciones de medicamento genérico e innovador y/o de referencia descritas en la NOM 177-SSA1-1998, para los lotes de tabletas de fenazopiridina (100 mg) del mercado nacional evaluadas en este estudio, no deberán exhibir un comportamiento diferente en la disolución *in vitro* así como en sus controles farmacéuticos.

V. DISEÑO EXPERIMENTAL

Tabla 2. Tipo de estudio del diseño experimental

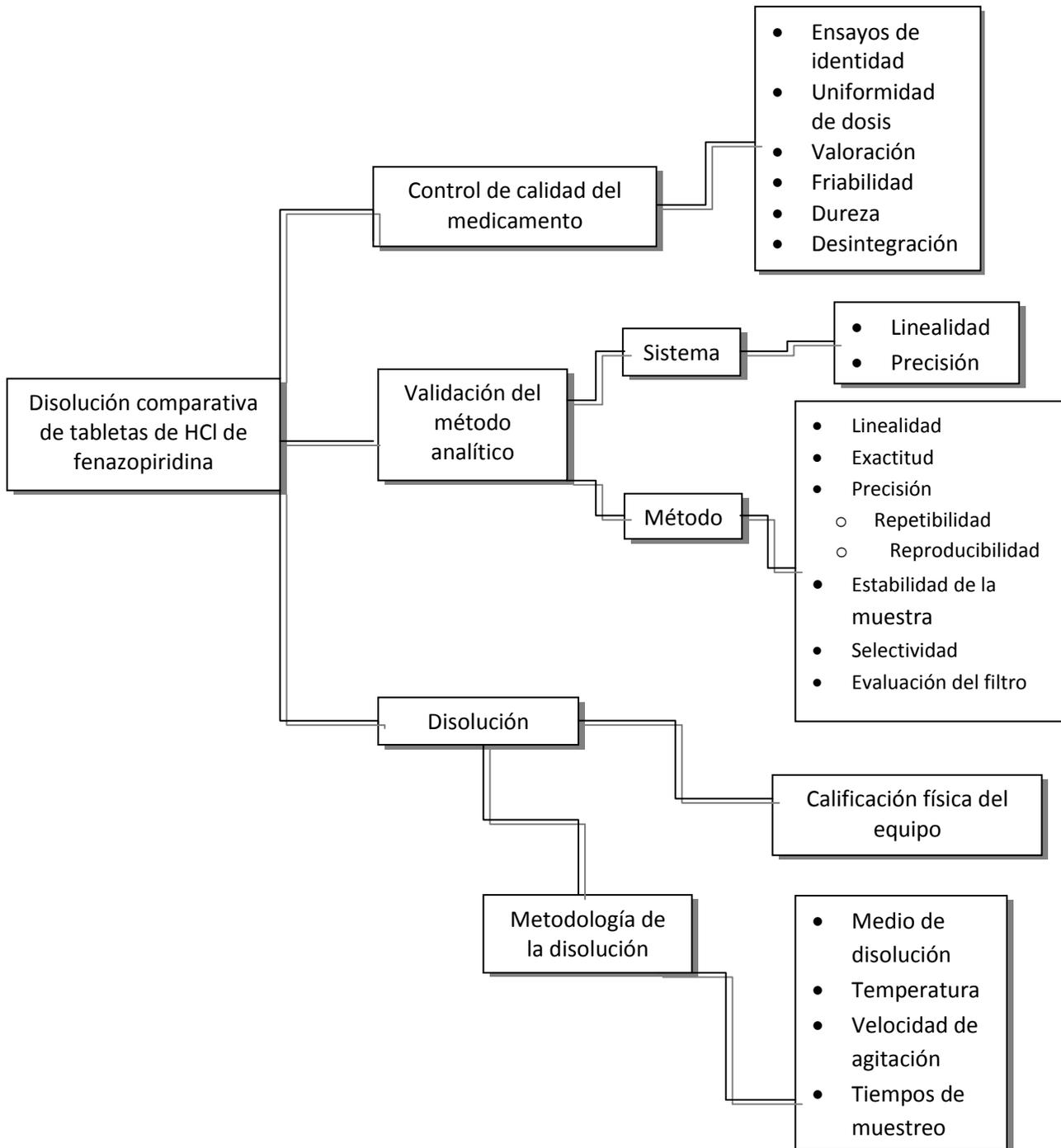
Tipo de Estudio				
Actitud del Investigador	Época de recolección de información	Cinética de estudio	Cantidad de poblaciones	Nombre del protocolo
Experimental	Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	Estudio experimental aleatorio controlado

A. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Tabletas de Fenazopiridina:

- ❑ Pimir® tabletas de 100 mg, Sanofi-Aventis. (medicamento de referencia), lote BOD260, fecha de caducidad Julio 2013.
- ❑ Fenazopiridina GI®, 100 mg, Sanofi-Aventis, lote BOD795, fecha de caducidad Agosto 2013.
- ❑ Urezol®, 100 mg, Mavi Farmacéutica, lote OL2256, fecha de caducidad Diciembre 2012.
- ❑ Fenazopiridina GI®, 100 mg, Sanofi Aventis (Farmacias del Ahorro), lote A16394 001, fecha de caducidad Diciembre 2013.

VI. METODOLOGÍA



A. MATERIAL

- ❑ Matraces aforados de 100 mL (marca PYREX) y 25 mL (marca KIMAX).
- ❑ Micropipeta 100-1000 μ L (marca BIOHIT).
- ❑ Vasos de precipitados de 250 mL.
- ❑ Jeringas de 5mL.
- ❑ Tubos de ensaye.
- ❑ Celda de cuarzo.
- ❑ Aditamentos para Disolutor USP II Varian 704 DS.
- ❑ Papel filtro poro abierto.

B. EQUIPO

- ❑ Balanza Analítica Mettler Toledo N° inv. 02253893.
- ❑ Espectrofotómetro Perkin-Elmer LAMBDA XLS+
- ❑ Disolutor USP II Varian 704 DS
- ❑ Friabilizador Elecsa FE 30A
- ❑ Desintegrador Kinet ET/LF/06 N° inv. 1338457.
- ❑ Centrífuga Sigma 2-4 N° inv. 1491184.
- ❑ Sonicator Elma transsonic 820/H Lab-line.
- ❑ Durómetro Erwcka TBH 125D N° Inv. 02344223

C. ESTÁNDAR

- ❑ Clorhidrato de fenazopiridina, estándar (pureza de 99.8 %)

D. REACTIVOS

- ❑ Agua destilada.
- ❑ Pimir® tabletas de fenazopiridina 100 mg, laboratorio Sanofi-Aventis de México, lote BOD260, fecha de caducidad Julio 2013.
- ❑ GI® tabletas de fenazopiridina 100 mg, laboratorio Sanofi-Aventis de México, lote BOD795, fecha de caducidad Agosto 2013.
- ❑ GI® tabletas de fenazopiridina 100 mg para venta exclusiva en Farmacias del Ahorro, laboratorio Sanofi-Aventis de México, lote A16394 001, fecha de caducidad Diciembre 2013.
- ❑ Urezol® Tablet de fenazopiridina 100 mg, laboratorio Mavi Farmacéutica, lote OL2256, fecha de caducidad Diciembre 2012.

E. CONTROL DE CALIDAD

Se llevó a cabo el análisis de control de calidad como producto terminado a las tabletas de fenazopiridina de acuerdo a la FEUM 9ª ed. Las pruebas fueron: descripción, ensayo de identidad, uniformidad de dosis, desintegración, friabilidad, dureza y valoración.

1. Descripción

La prueba fue llevada a cabo de forma visual utilizando 5 tabletas de cada marca comercial; se describió la forma, el color y que las tabletas no presentaran fracturas u otros defectos.

2. Ensayo de identidad

Se pesaron 12.5 mg de SRef de HCl de fenazopiridina y se colocaron en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos, se llevó al aforo con agua destilada y se agitó nuevamente. Se obtuvo una concentración de 125 µg/mL. (33)

Barrido de estándar

De la solución estándar, se tomó una alícuota de 1 mL, se depositó en un matraz volumétrico de 25 mL y se aforó con agua destilada. La concentración de la solución resultante fue de 5 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

Barrido de cada formulación

1. Se pesaron 3 tabletas de una de las cuatro marcas comerciales a evaluar. Se depositaron y trituraron las 3 tabletas en un mortero. Se pesaron 3 veces el equivalente a 12.5 mg de HCl de fenazopiridina proveniente del polvo de las tabletas.

2. Se depositó individualmente cada cantidad pesada en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos y se llevó al aforo con agua destilada para obtener una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

3. Se tomaron aproximadamente 10 mL de cada una de las 3 soluciones, se depositaron por separado en tubos de ensayo y se centrifugaron a 3000 rpm durante 4 min.

4. De cada una de las 3 porciones centrifugadas se tomó 1 mL, se depositó por separado en 3 matraces volumétricos de 25 mL, se aforó con agua destilada y se agitó. En cada matraz se obtuvo una concentración teórica de 5 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

Una vez obtenidas todas las soluciones con la misma concentración teórica (5 µg/mL de HCl de fenazopiridina), se realizaron los barridos en el espectrofotómetro de 200 a 500 nm utilizando como blanco agua destilada.

3. Friabilidad

Se tomó una muestra de 20 tabletas y se removió cualquier polvo con ayuda de una brocha suave. Se tomó el peso exacto de la muestra y se colocaron en el tambor. Se rotó el tambor 100 veces, se sacaron las tabletas, se removió cualquier residuo de polvo de las tabletas como antes y se pesaron las tabletas. (34,35)

4. Dureza

Se utilizaron 10 tabletas de cada marca comercial y fueron colocadas horizontalmente en el durómetro con el bisel en la misma dirección en la que se aplicaba la fuerza. (35)

5. Desintegración

En cada uno de los 6 tubos de la canastilla del desintegrador, se depositó una tableta. Se colocó en cada tubo un disco. Se puso el aparato en operación utilizando como líquido de inmersión agua a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Una vez que la tableta perdió su forma inicial, se elevó la canastilla para separarla del líquido de inmersión y se registró el tiempo. (33)

6. Valoración

Se preparó una solución amortiguadora (SA) de fosfatos; se pesaron 2.6406 g de fosfato dibásico de amonio, se depositó en un matraz volumétrico de 1L, se disolvió con 900 mL de agua destilada y se ajustó el pH a 3 con ácido fosfórico al 10%, se llevó al aforo con agua destilada y se mezcló. Se preparó 1L de una solución de SA de fosfatos-metanol (50:50). (33)

Preparación de referencia: Se pesó una cantidad equivalente a 12.5 mg de sustancia de referencia (Sref) de HCl de fenazopiridina, la cantidad pesada se depositó en un matraz volumétrico de 100 mL, se añadieron 50 mL de metanol y se sonicó por 10 minutos, se llevó al aforo con SA de fosfatos y se mezcló. Se tomó una alícuota de 2.6 mL, se depositó la alícuota en un matraz de 25 mL y se llevó al aforo con la solución de SA de fosfatos-Metanol (50:50). Esta solución tuvo una concentración teórica de 13 $\mu\text{g}/\text{mL}$. (33)

Preparación de la muestra: Se pesaron 20 tabletas de cada marca comercial, se calculó su peso promedio y se molió hasta polvo fino por separado. Se pesó por triplicado el equivalente a 25 mg de HCl de fenazopiridina del polvo de cada formulación. El polvo de cada muestra se depositó en un matraz volumétrico de 50 mL. Para disolver la muestra, a cada matraz se le agregó 25 mL de metanol y se sonicó por 10 minutos. Posteriormente se adicionaron 15 mL de SA de fosfatos y se sonicó nuevamente por 10 minutos, se llevó al aforo con la SA de fosfatos. (33)

De cada matraz se tomó una alícuota de 0.650 mL con ayuda de una micropipeta, cada alícuota se depositó en un matraz volumétrico de 25 mL y se llevó al aforo con la solución de SA de fosfatos-Metanol (50:50). Esta solución tuvo una concentración teórica de 13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de HCl de fenazopiridina. (33)

Procedimiento: Las solución de referencia, así como las muestras, se leyeron en un espectrofotómetro a una λ de 220 nm, utilizando como blanco la solución de SA de fosfatos-Metanol (50:50).

7. Uniformidad de dosis

Variación de masa. Se pesaron con exactitud 20 tabletas individualmente y con el resultado de la valoración se calculó el contenido del principio activo en cada una de las 20 tabletas. (33)

F. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Se evaluaron los parámetros de linealidad y precisión para el sistema en un rango de concentración de 2 a 7 $\mu\text{g/mL}$ de clorhidrato de fenazopiridina. Los parámetros evaluados para el método fueron: linealidad, exactitud, repetibilidad, reproducibilidad, estabilidad de la muestra, selectividad y evaluación del filtro. El rango de concentraciones de estos parámetros fue de 2 a 7 $\mu\text{g/mL}$ de clorhidrato de fenazopiridina. Se utilizó como medio de disolución agua destilada para la validación del sistema y del método. (22, 36, 37)

1. Parámetros de validación del sistema

a. Linealidad

1- Se pesaron 12.5 mg de SRef de HCl de fenazopiridina y se colocaron en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos, se llevó al aforo con agua destilada y se agitó nuevamente. Se obtuvo una concentración de 125 $\mu\text{g/mL}$.

2- De la solución Stock, con ayuda de una micropipeta, se tomaron alícuotas de 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL, 1 mL, 1.2 mL y 1.4 mL. Cada alícuota se depositó individualmente en matraces volumétricos de 25 mL que posteriormente, se llevaron al aforo con agua destilada para obtener las concentraciones respectivas de 2, 3, 4, 5, 6, 7 $\mu\text{g/mL}$ de fenazopiridina.

3- Las determinaciones se realizaron por duplicado y se leyó en el espectrofotómetro a 425 nm, utilizando como blanco agua destilada.

b. Precisión

Este parámetro se obtuvo mediante las determinaciones previas de linealidad, y se comprobó con un coeficiente de variación del factor respuesta menor al 2%.

2. Parámetros de validación del método analítico

a. Linealidad

Este parámetro de la validación se realizó empleando la técnica analítica estándar adicionado.

1- *Preparación de la solución estándar.* Se pesaron 12.5 mg de SRef HCl de fenazopiridina, se colocaron en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada y se agitó mecánicamente por 20 min. Se aforó con agua destilada y se agitó manualmente. Se obtuvo una concentración teórica de 125 $\mu\text{g/mL}$ de HCl de fenazopiridina.

2- *Preparación de la solución muestra.* Se pesaron 5 tabletas de cada una de las cuatro marcas comerciales a evaluar. Se depositaron y trituraron las 20 tabletas en un mortero. Se pesaron 20 veces el equivalente a 12.5 mg de HCl de fenazopiridina proveniente del polvo de las tabletas.

Se depositó individualmente cada cantidad pesada en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos y se llevó al aforo con agua destilada para obtener una concentración teórica de 125 $\mu\text{g/mL}$ de HCl de fenazopiridina.

Posteriormente, se tomaron aproximadamente 10 mL de cada una de las 20 soluciones, se depositaron por separado en tubos de ensaye y se centrifugaron a 3000 rpm durante 4 min.

3- *Soluciones finales.* Con ayuda de la micropipeta, se tomaron alícuotas de la solución estándar y de cada solución muestra (provenientes de las porciones centrifugadas) de acuerdo a la tabla 3 que se presenta a continuación:

Tabla 3. Preparación de las soluciones finales para linealidad

Volumen de la solución Std (mL)	+	Volumen de la solución muestra (mL)	Aforo (mL)	Número de matraces utilizados	Concentración final teórica (µg/mL)
0.4	+	0.0	25	3	2
0.4	+	0.2	25	3	3
0.4	+	0.4	25	3	4
0.4	+	0.6	25	5	5
0.4	+	0.8	25	3	6
0.4	+	1.0	25	3	7

4- Finalmente, se determinó la absorbancia de las soluciones finales obtenidas a 425 nm, empleando como blanco agua destilada.

5- La solución estándar restante se resguardó en el refrigerador.

b. Exactitud

El parámetro de exactitud del método se obtuvo con los datos del porcentaje recuperado de los datos de linealidad, los cuales deben ser menores al 3% en los distintos niveles de concentración empleados en el parámetro de linealidad.

c. Repetibilidad

El parámetro de repetibilidad del método, se obtuvo con el coeficiente de variación del porcentaje de recobro de los datos de linealidad, y este debe ser menor del 3%.

d. Reproducibilidad

Se evaluó el efecto que existe entre el día y analista.

1- *Preparación de la solución estándar.* Se utilizó la solución estándar que se hizo en linealidad del método, con una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

2- *Preparación de la solución muestra.* Se pesaron 5 tabletas de cada una de las cuatro marcas comerciales a evaluar. Se depositaron y trituraron las 20 tabletas en un mortero. Se pesaron 9 veces el equivalente a 12.5 mg de HCl de fenazopiridina proveniente del polvo de las tabletas. El polvo sobrante se guardó en un desecador.

Se depositó individualmente cada cantidad pesada en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos y se llevó al aforo con agua destilada para obtener una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

Posteriormente, se tomaron aproximadamente 10 mL de cada una de las 9 soluciones, se depositaron por separado en tubos de ensaye y se centrifugaron a 3000 rpm durante 4 min.

3- *Soluciones finales.* Con ayuda de la micropipeta, se tomaron alícuotas de la solución estándar y de cada solución muestra (provenientes de las porciones centrifugadas) de acuerdo a la tabla 4 que se presenta a continuación:

Tabla 4. Preparación de las soluciones finales para reproducibilidad

Volumen de la solución Std (mL)	+	Volumen de la solución muestra (mL)	Aforo (mL)	Número de matraces utilizados	Concentración final teórica (µg/mL)
0.4	+	0.2	25	3	3
0.4	+	0.6	25	3	5
0.4	+	1.0	25	3	7

4- Finalmente, se determinó la absorbancia de las soluciones finales obtenidas a 425 nm, empleando como blanco agua destilada.

e. Estabilidad de la muestra

1- *Preparación de la solución estándar.* Se utilizó la solución estándar que se hizo en linealidad del método, con una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

2- *Preparación de la solución muestra.* Se utilizó el polvo proveniente de las tabletas que se trituraron anteriormente y se pesaron 6 veces el equivalente a 12.5 mg de HCl de fenazopiridina proveniente del polvo de las tabletas.

Se depositó individualmente cada cantidad pesada en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos y se llevó al aforo con agua destilada para obtener una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

Se tomaron aproximadamente 10 mL de cada una de las 9 soluciones, se depositaron por separado en tubos de ensaye y se centrifugaron a 3000 rpm durante 4 min.

3- *Soluciones finales.* Con ayuda de la micropipeta, se tomaron alícuotas de la solución estándar y de cada solución muestra (provenientes de las porciones centrifugadas) de acuerdo a la tabla 5 que se presenta a continuación:

Tabla 5. Preparación de las soluciones finales de estabilidad

Volumen de la solución Std (mL)	+	Volumen de la solución muestra (mL)	Aforo (mL)	Número de matraces utilizados	Concentración final teórica ($\mu\text{g/mL}$)
0.4	+	0.2	25	2	3
0.4	+	0.6	25	2	5
0.4	+	1.0	25	2	7

4- Posteriormente, se fraccionó cada solución en 4 tubos de ensaye. El tubo uno de cada solución fraccionada se leyó directamente en el espectrofotómetro a 425 nm, los demás tubos fueron resguardados en el refrigerador y se leyeron en el espectrofotómetro a 425 nm a las 2, 4, y 24 horas, empleando como blanco agua destilada.

f. Selectividad

Para este parámetro se realizaron barridos que fueron obtenidos de la siguiente manera:

Barrido de estándar

1- Se utilizó la solución estándar que se hizo en linealidad del método, con una concentración teórica de 125 $\mu\text{g/mL}$ de HCl de fenazopiridina.

2- De la solución estándar, se tomó una alícuota de 1 mL, se depositó en un matraz volumétrico de 25 mL y se aforó con agua destilada. Se obtuvo una concentración teórica de 5 $\mu\text{g/mL}$ de HCl de fenazopiridina.

Barrido de cada formulación

1- Se pesaron 3 tabletas de una de las cuatro marcas comerciales a evaluar. Se depositaron y trituraron las 3 tabletas en un mortero. Se pesaron 3 veces el equivalente a 12.5 mg de HCl de fenazopiridina proveniente del polvo de las tabletas.

2- Se depositó individualmente cada cantidad pesada en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos y se llevó al aforo con agua destilada para obtener una concentración teórica de 125 $\mu\text{g/mL}$ de HCl de fenazopiridina.

3- Se tomaron aproximadamente 10 mL de cada una de las 3 soluciones, se depositaron por separado en tubos de ensaye y se centrifugaron a 3000 rpm durante 4 min.

4- De cada una de las 3 porciones centrifugadas se tomó 1 mL, se depositó por separado en 3 matraces volumétricos de 25 mL, se aforó con agua destilada y se agitó. En cada matraz se obtuvo una concentración teórica de 5 $\mu\text{g/mL}$ de HCl de fenazopiridina.

Este procedimiento se realizó para cada una de las cuatro marcas comerciales.

Barrido de mezcla de polvos

1- Se pesaron 5 tabletas de cada una de las cuatro marcas comerciales a evaluar. Se depositaron y trituraron las 20 tabletas en un mortero. Se pesaron 3 veces el equivalente a 12.5 mg de HCl de fenazopiridina proveniente del polvo de las tabletas. El polvo restante se guardó en un desecador.

2- Se depositó individualmente cada cantidad pesada en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos y se llevó al aforo con agua destilada para obtener una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

3- Se tomaron aproximadamente 10 mL de cada una de las 3 soluciones, se depositaron por separado en tubos de ensaye y se centrifugaron a 3000 rpm durante 4 min.

4- De cada una de las 3 porciones centrifugadas se tomó 1 mL, se depositó por separado en 3 matraces volumétricos de 25 mL, se aforó con agua destilada y se agitó. En cada matraz se obtuvo una concentración teórica de 5 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

Barrido de cada formulación más estándar

1- Se pesaron 3 veces el equivalente a 12.5 mg de HCl de fenazopiridina proveniente del polvo de las tabletas de una de las cuatro marcas comerciales a evaluar.

2- Se depositó individualmente cada cantidad pesada en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos y se llevó al aforo con agua destilada para obtener una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

3- Se tomaron aproximadamente 10 mL de cada una de las 3 soluciones, se depositaron por separado en tubos de ensaye y se centrifugaron a 3000 rpm durante 4 min.

4- De cada una de las 3 porciones centrifugadas se tomó una alícuota de 0.5 mL y se depositaron por separado en 3 matraces volumétricos de 25 mL. En cada uno de los tres matraces se adicionaron 0.5 mL de la solución estándar que se hizo en linealidad del método (con una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina), se aforó con agua destilada y se agitó. En cada matraz se obtuvo una concentración teórica de 5 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

Este procedimiento se realizó para cada una de las cuatro marcas comerciales.

Barrido de mezcla de polvos más estándar

1- Se pesaron 3 veces el equivalente a 12.5 mg de HCl de fenazopiridina proveniente de la mezcla de polvos de las tabletas de las cuatro marcas comerciales.

2- Se depositó individualmente cada cantidad pesada en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos y se llevó al aforo con agua destilada para obtener una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

3- Se tomaron aproximadamente 10 mL de cada una de las tres soluciones, se depositaron por separado en tubos de ensaye y se centrifugaron a 3000 rpm durante 4 min.

4- De cada una de las 3 porciones centrifugadas se tomó una alícuota de 0.5 mL y se depositaron por separado en 3 matraces volumétricos de 25 mL. En cada uno de los tres matraces se adicionaron 0.5 mL de la

solución estándar que se hizo en linealidad del método (con una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina), se aforó con agua destilada y se agitó. En cada matraz se obtuvo una concentración teórica de 5 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

Una vez obtenidas todas las soluciones con la misma concentración teórica (5 µg/mL de HCl de fenazopiridina), se realizaron los barridos en el espectrofotómetro de 200 a 500 nm utilizando como blanco agua destilada.

g. Evaluación del filtro.

Solución estándar

1. Se pesaron 12.5 mg de SRef de HCl de fenazopiridina y se colocaron en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos, se llevó al aforo con agua destilada y se agitó nuevamente. Se obtuvo una concentración de 125 µg/mL.

2. Se tomaron aproximadamente 50 mL de la solución anterior y se pasaron a través del filtro.

3. Con la micropipeta, se tomaron alícuotas de 0.6 mL, 1 mL y 1.4 mL de la porción filtrada. Cada alícuota se depositó individualmente en matraces volumétricos de 25 mL que posteriormente, se llevaron al aforo con agua destilada para obtener las concentraciones respectivas de 3, 5, y 7 µg/mL de HCl de fenazopiridina. Este paso se hizo por duplicado.

4. Después del paso anterior, se tomaron alícuotas de 0.6 mL, 1 mL y 1.4 mL de la porción no filtrada. Cada alícuota se depositó individualmente en matraces volumétricos de 25 mL y se llevaron al aforo con agua destilada para obtener las concentraciones respectivas de 3, 5, y 7 µg/mL de HCl de fenazopiridina. Este paso se hizo por duplicado.

5. Las 12 muestras obtenidas se leyeron en el espectrofotómetro a 425nm, usando como blanco agua destilada.

Solución muestra

1. Se pesaron 6 veces el equivalente a 12.5 mg de HCl de fenazopiridina proveniente de la mezcla de polvos de las tabletas de las cuatro marcas comerciales.

2. Se depositó individualmente cada cantidad pesada en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente por 20 minutos y se llevó al aforo con agua destilada para obtener una concentración teórica de 125 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

3. Se tomaron aproximadamente 50 mL de cada solución anterior y se hizo pasar cada una a través de un filtro. De la porción sobrante de cada solución, se tomaron aproximadamente 10 mL de cada una, se depositaron por separado en tubos de ensaye y se centrifugaron a 3000 rpm durante 4 min.

4. Con la micropipeta, se tomaron alícuotas de 0.6 mL de dos de las porciones filtradas, se tomaron alícuotas de 1 mL de otras dos porciones y se tomaron alícuotas de 1.4 mL de las porciones filtradas restantes. Cada alícuota se depositó individualmente en matraces volumétricos de 25 mL y se llevaron al aforo con agua destilada para obtener las concentraciones respectivas de 3, 5, y 7 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

5. Posteriormente, se tomaron alícuotas de 0.6 mL de dos de las porciones no filtradas, se tomaron alícuotas de 1 mL de otras dos porciones y se tomaron alícuotas de 1.4 mL de las porciones no filtradas restantes. Cada alícuota se depositó individualmente en matraces volumétricos de 25 mL y se llevaron al aforo con agua destilada para obtener las concentraciones respectivas de 3, 5, y 7 $\mu\text{g/mL}$ de HCl de fenazopiridina.

6. Las 12 muestras obtenidas se leyeron en el espectrofotómetro a 425nm, usando como blanco agua destilada.

G. METODOLOGÍA DE LA DISOLUCIÓN

Se programó el aparato de disolución II para trabajar a una temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$, con una velocidad de 50 rpm.

Se utilizó agua desgasificada como medio de disolución; se colocó agua destilada en un matraz Erlenmeyer y se sonicó durante 15 minutos.

Se colocaron 900 mL del medio de disolución en 6 vasos del Aparato II. Se llevó el medio de disolución de cada vaso a una temperatura constante de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$.

Una vez conseguida la temperatura constante ($37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$) en cada vaso con medio de disolución, se colocó una tableta de fenazopiridina en cada vaso del aparato, se puso inmediatamente el aparato en funcionamiento y se taparon los vasos.

Los tiempos de muestreo fueron de 1, 2.5, 5, 10, 15 y 20 minutos. Se tomó una alícuota de 3 mL para cada muestreo y se hizo pasar a través del filtro. La toma de muestras de cada vaso se tomó del mismo lugar; se eligió un solo lado del vaso tratando de tomar la muestra desde una parte central, de entre la superficie del medio de disolución y la superficie de la paleta, y una parte central entre la pared del vaso y el eje de la paleta. Todos los muestreos fueron sin reemplazo del volumen extraído.

Para obtener los perfiles de disolución, esta metodología se llevó a cabo dos veces por cada perfil ya que el equipo está acondicionado originalmente solo para trabajar con 6 vasos a la vez y se necesitan 12 unidades (tabletas de HCl de fenazopiridina) para obtener el perfil.

El tratamiento de las muestras obtenidas durante el proceso de disolución se realizó de la siguiente manera:

De los 3 mL obtenidos de todos los tiempos de muestreo, se tomó una alícuota de 1 mL de cada uno y se depositó cada alícuota en un matraz volumétrico de 25 mL.

Para los muestreos del primer tiempo, se adicionó 1 mL de solución estándar en cada matraz. Posteriormente se llevaron al aforo todos los matraces de todos los muestreos con agua destilada y se leyeron en el espectrofotómetro a 425 nm utilizando como blanco agua destilada.

Preparación de la solución estándar: Se pesaron 12.5 mg de SRef clorhidrato de fenazopiridina, se colocaron en un matraz volumétrico de 100 mL, se adicionaron aproximadamente 50 mL de agua destilada y se agitó mecánicamente por 20 min. Se aforó con agua destilada y se agitó manualmente. Se obtuvo una concentración teórica de $125\text{ }\mu\text{g/mL}$ de HCl de fenazopiridina. (33)

VII. RESULTADOS

A. CONTROL DE CALIDAD

En las tablas siguientes (tabla 6 a 9) se muestran los resultados del análisis de control de calidad como producto terminado que se le realizaron a las tabletas de fenazopiridina de las marcas: Pimir®, GI®, GI® para venta exclusiva en Farmacias del Ahorro y Urezol®.

Tabla 6. Control de calidad de Pimir®

Análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Sin especificación	Tableta de forma redonda, lisa, color rojo, libre de fracturas e imperfecciones.
Ensayo de identidad	El espectro de absorción obtenido con la solución de la muestra corresponde al obtenido con la solución de referencia	El espectro de absorción obtenido con la solución de la muestra corresponde al obtenido con la solución de referencia
Friabilidad	No más del 1 %	0.83 %
Desintegración	Tiempo máximo 20 min	1 minuto 50 segundos
Valoración	95 % - 105 %	96.95 % DER= 1.54 %
Uniformidad de dosis	85 % - 115 % DER < 6%	95.46 % - 97.75 % DER =0.72 %
Dureza	Sin especificación	Promedio = 7.23 kgf (6.2-8.3 kgf) DER= 8.47 %

Tabla 7. Control de calidad de GI®

Análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Sin especificación	Tableta de forma redonda, lisa, color rojo, libre de fracturas e imperfecciones.
Ensayo de identidad	El espectro de absorción obtenido con la solución de la muestra corresponde al obtenido con la solución de referencia	El espectro de absorción obtenido con la solución de la muestra corresponde al obtenido con la solución de referencia
Friabilidad	No más del 1 %	0.38 %
Desintegración	Tiempo máximo 20 min	2 minutos
Valoración	95 % - 105 %	97.56 % DER= 0.88 %
Uniformidad de dosis	85 % - 115 % DER < 6%	96.41 % - 98.55 % DER = 0.68 %
Dureza	Sin especificación	Promedio = 5.58 kgf (4.9-6.8 kgf) DER= 11.16 %

Tabla 8. Control de calidad de GI® de Farmacias del Ahorro

Análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Sin especificación	Tableta de forma redonda, lisa, color rojo, libre de fracturas e imperfecciones.
Ensayo de identidad	El espectro de absorción obtenido con la solución de la muestra corresponde al obtenido con la solución de referencia	El espectro de absorción obtenido con la solución de la muestra corresponde al obtenido con la solución de referencia
Friabilidad	No más del 1 %	0.26 %
Desintegración	Tiempo máximo 20 min	2 minutos 38 segundos
Valoración	95 % - 105 %	101.22 % DER= 2.25 %
Uniformidad de dosis	85 % - 115 % DER < 6%	98.90 % - 104.28 % DER = 1.608 %
Dureza	Sin especificación	Promedio = 5.07 kgf (4.5-5.6 kgf) DER= 6.77 %

Tabla 9. Control de calidad de Urezol®

Análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Sin especificación	Tableta de forma redonda, lisa, color rojo con puntos color naranja, libre de fracturas e imperfecciones.
Ensayo de identidad	El espectro de absorción obtenido con la solución de la muestra corresponde al obtenido con la solución de referencia	El espectro de absorción obtenido con la solución de la muestra corresponde al obtenido con la solución de referencia
Friabilidad	No más del 1 %	0.26 %
Desintegración	Tiempo máximo 20 min	2 minutos 38 segundos
Valoración	95 % - 105 %	96.34 % DER= 0.89 %
Uniformidad de dosis	85 % - 115 % DER < 6%	93.66 % -98.47 % DER = 1.392 %
Dureza	Sin especificación	Promedio = 5.52 kgf (5.0-6.1kgf) DER= 5.90 %

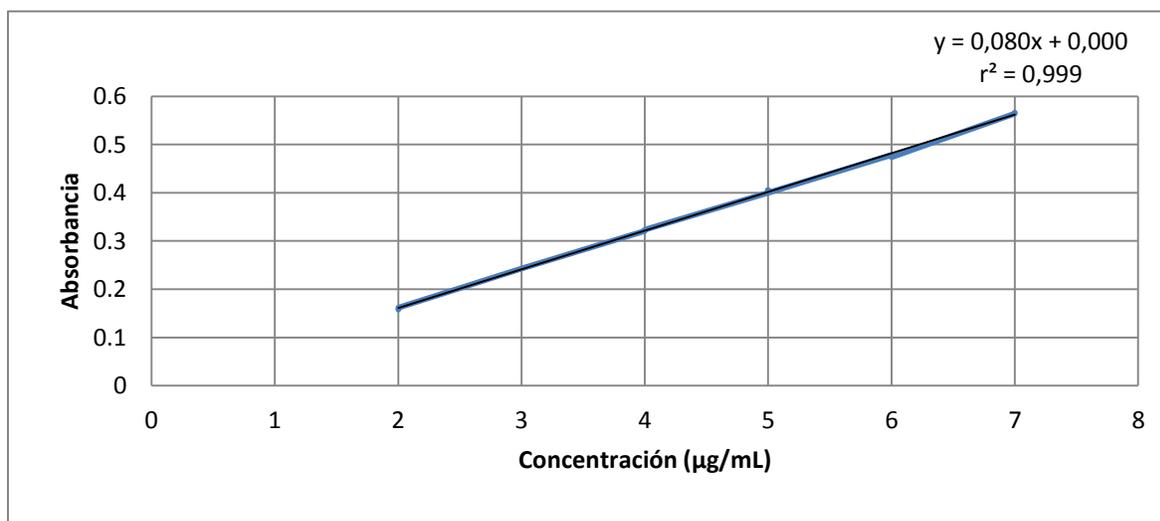
B. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

1. Parámetros de validación del sistema

a. Linealidad

Se determinó un coeficiente de determinación de 0.999, un error estándar de la regresión de 0.347 % y un error estándar estimado de 0.373 %. Los datos obtenidos de la prueba se encuentran en la tabla 10 y la figura 3.

Figura 3. Gráfica de linealidad del sistema



b. Precisión

De los datos obtenidos en la prueba de linealidad, se obtuvo un coeficiente de variación para los datos de factor de respuesta de 0.864 % (Tabla 10).

Tabla 10. Precisión del sistema

Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Factor respuesta (C / A)
2	0.158	0.079
2	0.162	0.081
3	0.243	0.081
3	0.243	0.081
4	0.321	0.080
4	0.323	0.081
5	0.400	0.080
5	0.405	0.081
5	0.401	0.080
5	0.404	0.081
5	0.400	0.080
6	0.478	0.080
6	0.474	0.079
7	0.564	0.081
7	0.566	0.081
r^2		0.9994
$CV_{C/A}$		0.864 %

2. Parámetros de validación del método analítico

a. Linealidad

Este parámetro de validación del método analítico se obtuvo con ayuda de la técnica analítica estándar adicionado, se mantuvo fija una cantidad de estándar que daba una lectura proporcional a 2 µg/mL de HCl de fenazopiridina. Se construyó primeramente una curva con muestras que abarcaban concentraciones de 2 a 7 µg/mL, conformadas por la concentración fija de estándar y la cantidad necesaria de muestra proveniente de las tabletas para obtener las concentraciones de 2, 3, 4, 5, 6 y 7 µg/mL de HCl de fenazopiridina.

Para generar una curva donde solo se apreciaran los valores provenientes de las tabletas, se restó la lectura correspondiente a la cantidad fija de estándar (2 µg/mL de HCl de fenazopiridina) a cada una de las posteriores lecturas y se obtuvo una curva que abarcó las concentraciones de 1, 2, 3, 4 y 5 µg/mL de HCl de fenazopiridina. Al final se determinó un coeficiente de determinación de 0.999, un error estándar de la regresión de 0.202 % y un error estándar estimado de 0.208 %. A continuación en la tabla 11, así como el gráfico obtenido en la figura 4, se presentan los resultados obtenidos en esta prueba.

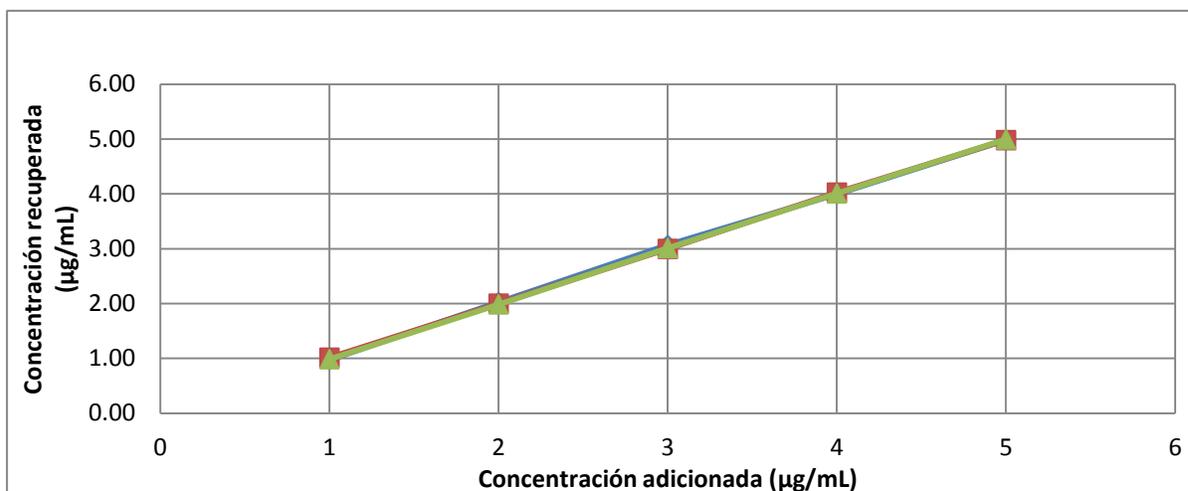


Figura 4. Gráfica de linealidad del método

b. Exactitud

El parámetro de exactitud del método se obtuvo con los datos del porcentaje recuperado de los datos de linealidad, los resultados manifestaron variaciones menores del 3 % con respecto a la cantidad nominal en los cinco niveles de concentración empleados, tal como se muestra en la tabla 11.

Tabla 11. Linealidad, exactitud y repetibilidad del método

Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Concentración recuperada (µg/mL)	% recuperado	CV (%)
1	0.072	0,971	97,098	2.113
1	0.075	1,012	101,202	
1	0.073	0,985	98,466	
2	0.149	2,025	101,226	1.044
2	0.147	1,997	99,858	
2	0.146	1,983	99,174	
3	0.225	3,064	102,146	1.066
3	0.220	2,996	99,866	
3	0.221	3,010	100,322	
3	0.219	2,982	99,410	
3	0.220	2,996	99,866	
4	0.293	3,995	99,870	0.341
4	0.295	4,022	100,554	
4	0.294	4,008	100,212	
5	0.365	4,980	99,599	0.158
5	0.365	4,980	99,599	
5	0.366	4,994	99,872	
			% Recuperado total	CV total (%)
			97.097- 101.226	1.121

c. Repetibilidad

El parámetro de precisión en término de repetibilidad del método, se obtuvo con el coeficiente de variación total de los porcentajes de recobro de los datos de linealidad y fue de 1.121 %. Se puede apreciar en la tabla 11.

d. Reproducibilidad

El coeficiente de variación global de los porcentajes recuperados obtenidos de la evaluación del efecto por día y analista, dio un valor de 2.108 %, el cual está acorde al criterio de aceptación para este parámetro de validación y pueden observarse los datos en la tabla 12.

Tabla 12. Resultados obtenidos en el parámetro de reproducibilidad

Analista	Concentración (µg/mL)	Absorbancia día 1	Absorbancia día 2	% Recuperado día 1	% Recuperado día 2
Analista 1	3	0.243	0.244	101.651	102.084
		0.240	0.245	100.352	102.517
		0.241	0.241	100.785	100.785
	5	0.376	0.391	95.553	99.451
		0.385	0.400	97.892	101.790
		0.381	0.403	96.853	102.570
	7	0.545	0.544	99.623	99.437
		0.546	0.552	99.808	100.922
		0.549	0.551	100.365	100.736
Analista 2	3	0.236	0.241	98.619	100.785
		0.224	0.232	93.422	96.887
		0.235	0.248	98.186	103.812
	5	0.394	0.399	100.231	101.530
		0.405	0.398	103.090	101.271
		0.397	0.399	101.011	101.530
	7	0.543	0.538	99.251	98.323
		0.544	0.545	99.437	99.623
		0.551	0.546	100.736	99.808
				CV	2.108 %

e. Estabilidad de la muestra

Las absorbancias obtenidas de las muestras en los tiempos descritos previamente en la sección de metodología, se presentan en la tabla 13.

Tabla 13. Estabilidad de la muestra

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancias			
	Inicial	2 horas	4 horas	24 horas
3	0.250	0.254	0.258	0.261
	0.256	0.257	0.256	0.261
5	0.411	0.412	0.411	0.417
	0.408	0.412	0.412	0.417
7	0.563	0.564	0.566	0.572
	0.564	0.567	0.576	0.579

La prueba de t de Dunnet, fue aplicada a los datos de la tabla 13, para determinar si había cambios de absorbancias significativos a través del tiempo. Al obtenerse t (calculados) menores a t Dunnet, se infiere que la muestra es estable hasta las 24 h, bajo las condiciones estudiadas.

Tabla 14. Prueba de Dunnet para estabilidad

Tiempo	2 horas	4 horas	24 horas
t_d	0.0289	0.0558	0.1137
t_d tablas	2.54		

Para la prueba de Dunnet se tomaron como valores de referencia las absorbancias iniciales que se presentan en la tabla 13, y se comparó contra los valores obtenidos en cada tiempo establecido tal y como se presenta en la tabla 14.

f. Selectividad

A continuación se presentan los espectrogramas obtenidos para demostrar la selectividad del método. Los espectrogramas evidencian la no interferencia de los excipientes contenidos en las diferentes formulaciones de tabletas de clorhidrato de fenazopiridina (figura 6 a 9) cuando son comparados con el espectrograma correspondiente a una solución estándar de clorhidrato fenazopiridina a una concentración de 5 $\mu\text{g/mL}$ (figura 5) y los espectrogramas correspondientes a la mezcla de las formulaciones estudiadas y el estándar adicionado (figura 10 a 13). La no interferencia en la cuantificación del activo en el método propuesto también fue evaluada a través de determinar la diferencia no significativa entre las absorbancias máximas obtenidas en cada una de las muestras (formulación sola, formulación más estándar) por medio de un análisis de varianza, estos resultados son presentados en el anexo B de la tabla 23 a 27. Los barridos correspondientes a las muestras de mezclas de polvos con y sin estándar se presentan en las figuras 14 y 15.

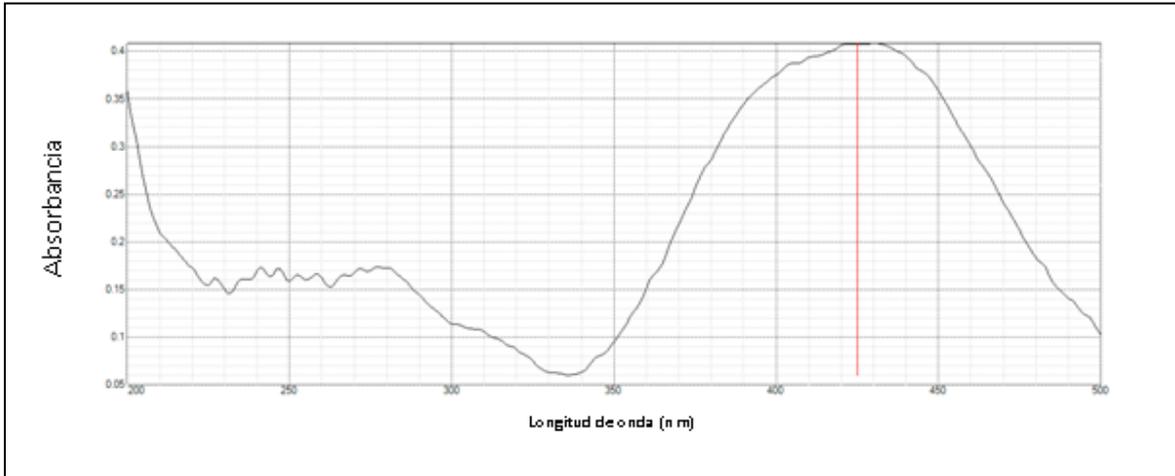


Figura 5. Espectrograma obtenido de la solución estándar.

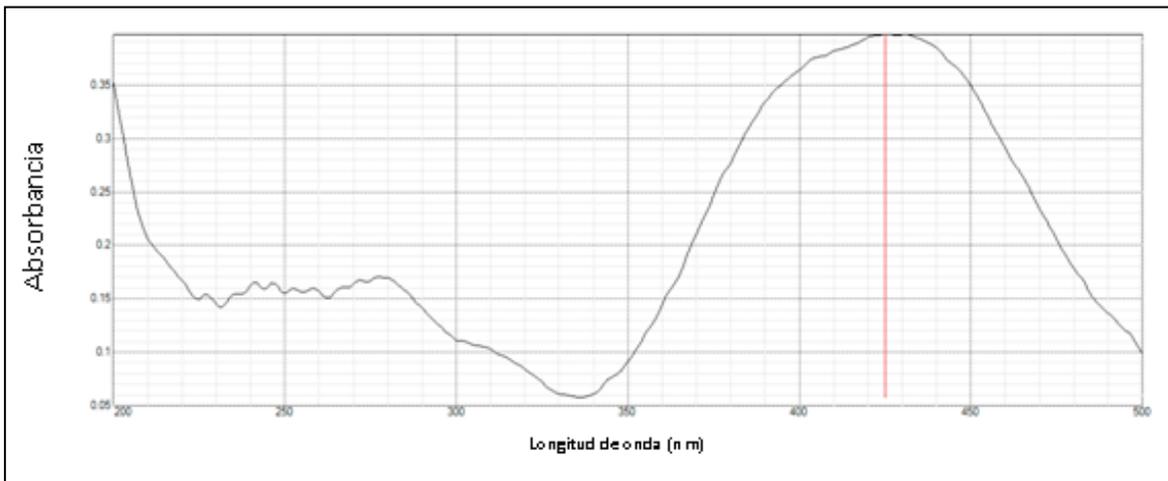


Figura 6. Espectrograma de la muestra proveniente de las tabletas Pimir®.

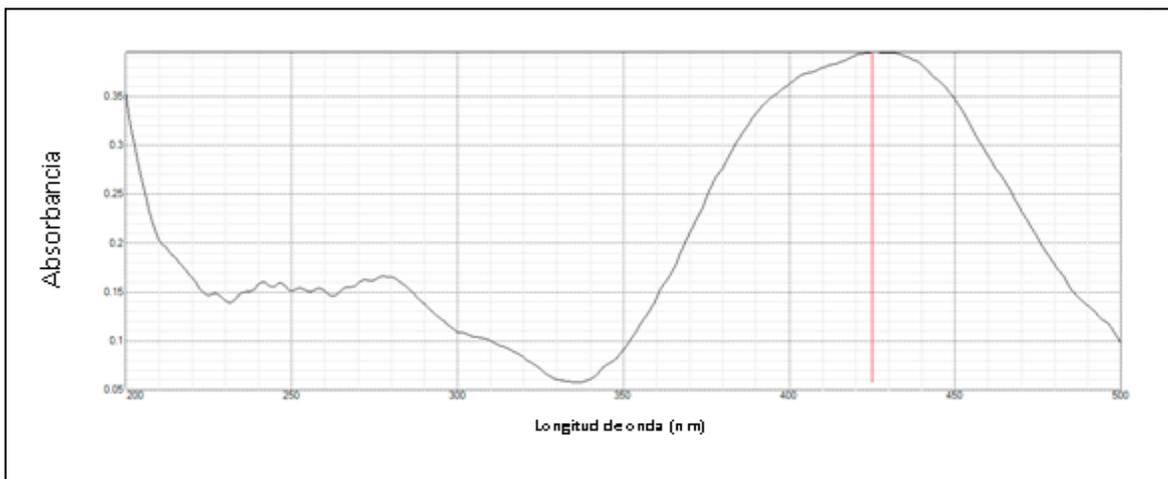


Figura 7. Espectrograma obtenido de la muestra proveniente de las tabletas GI® Sanofi-Aventis.

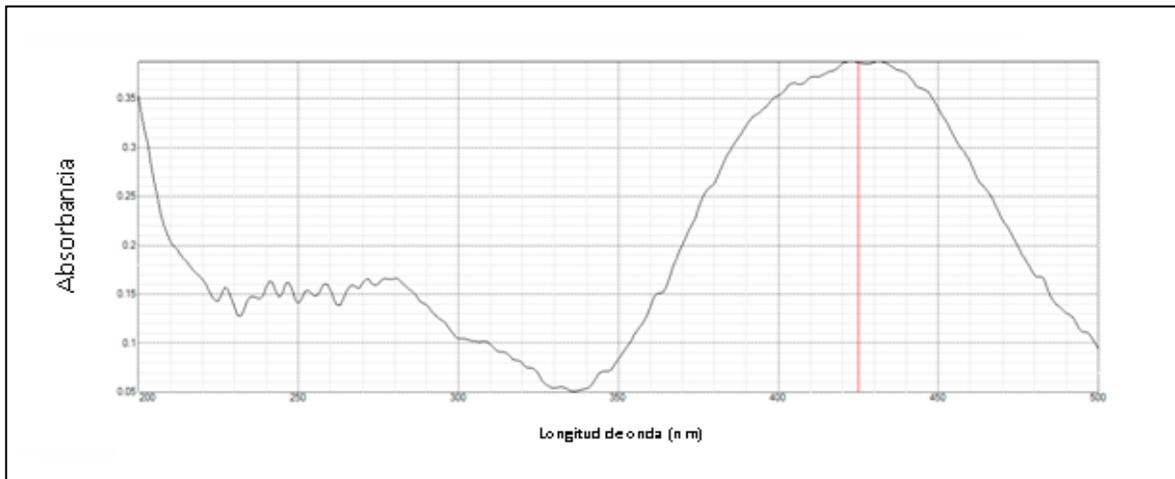


Figura 8. Espectrograma de la muestra proveniente de las tabletas GI® para venta en Farmacias del Ahorro.

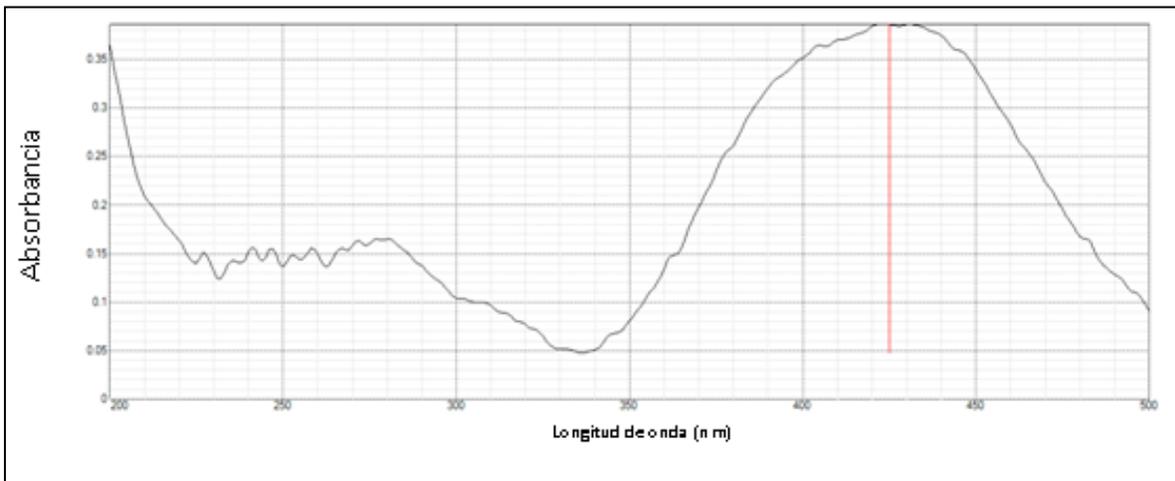


Figura 9. Espectrograma de la muestra proveniente de las tabletas Urezol®.

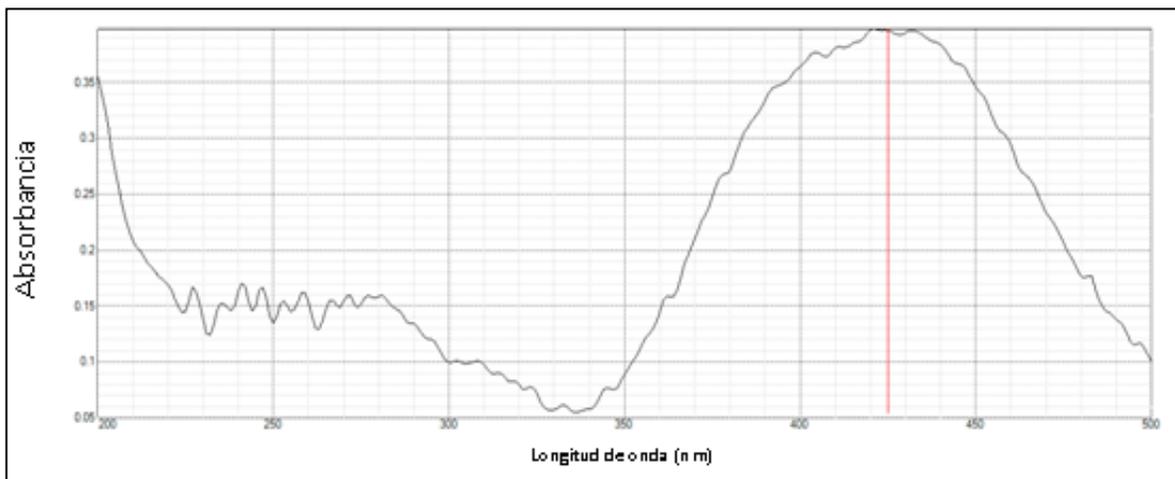


Figura 10. Espectrograma obtenido de la muestra proveniente de las tabletas Pimir® + Estándar.

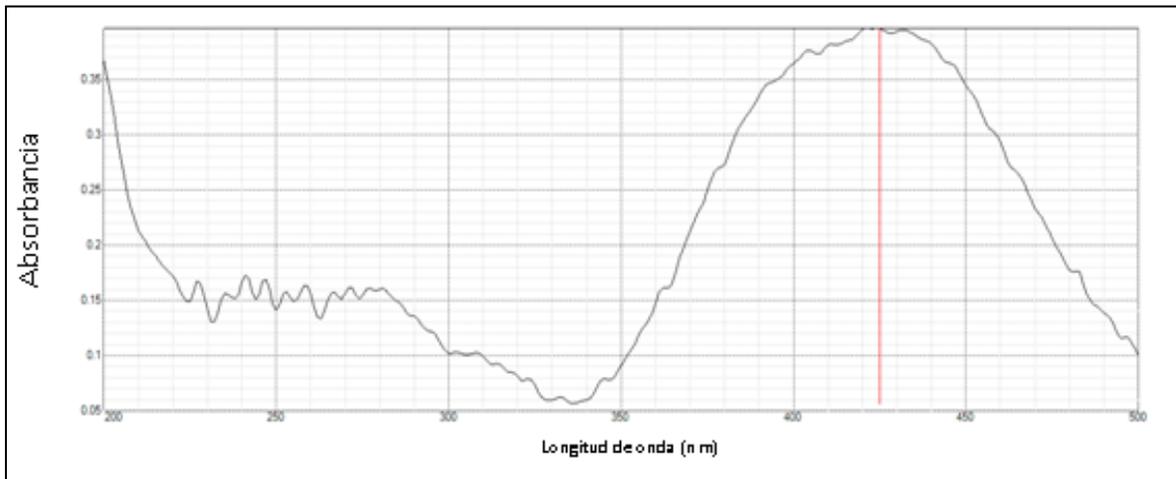


Figura 11. Espectrograma obtenido de la muestra proveniente de las tabletas GI® Sanofi-Aventis + Estándar.

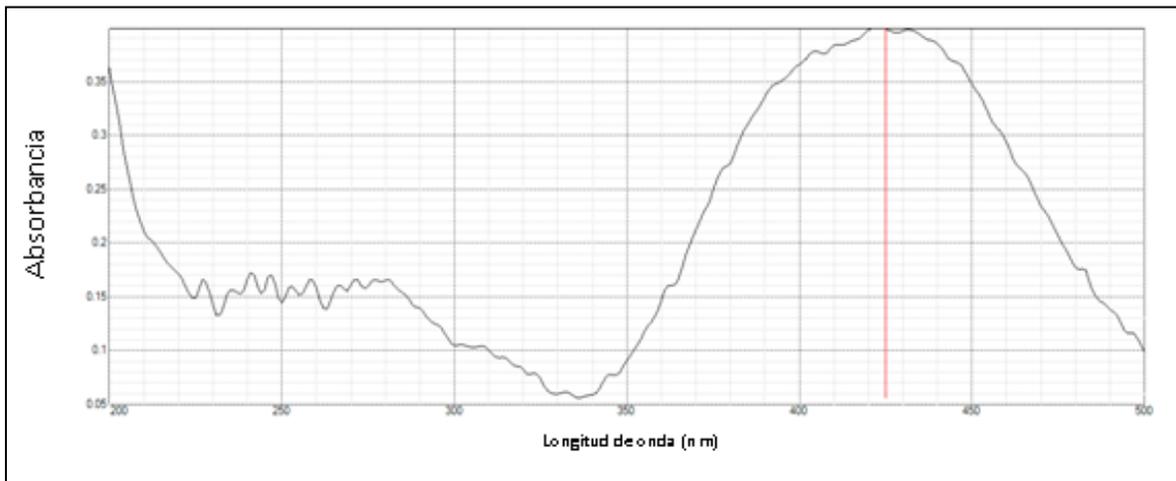


Figura 12. Espectrograma obtenido de la muestra proveniente de las tabletas GI® para venta en Farmacias del Ahorro + Estándar.

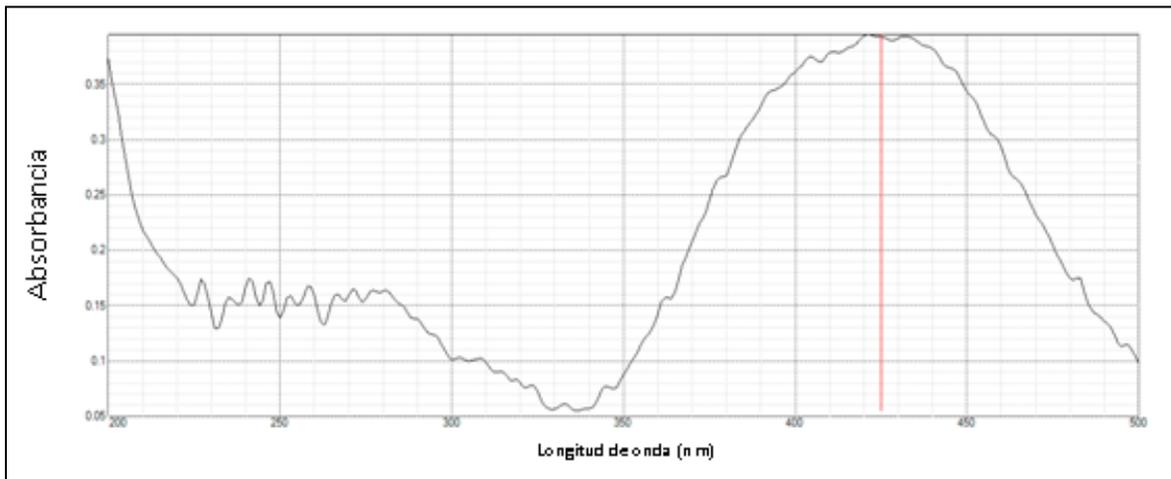


Figura 13. Espectrograma obtenido de la muestra proveniente de las tabletas Urezol® + Estándar.

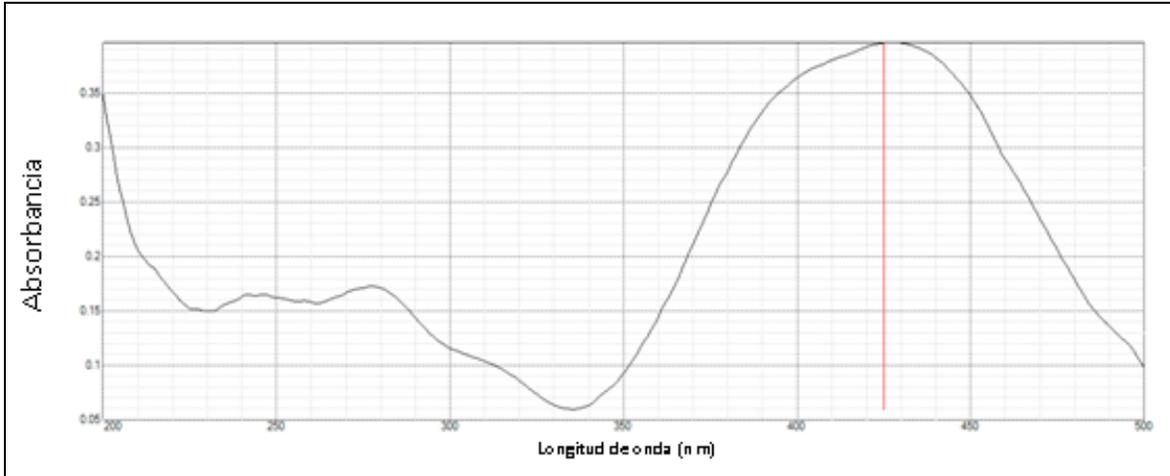


Figura 14. Espectrograma obtenido de la muestra proveniente de la mezcla de polvos.

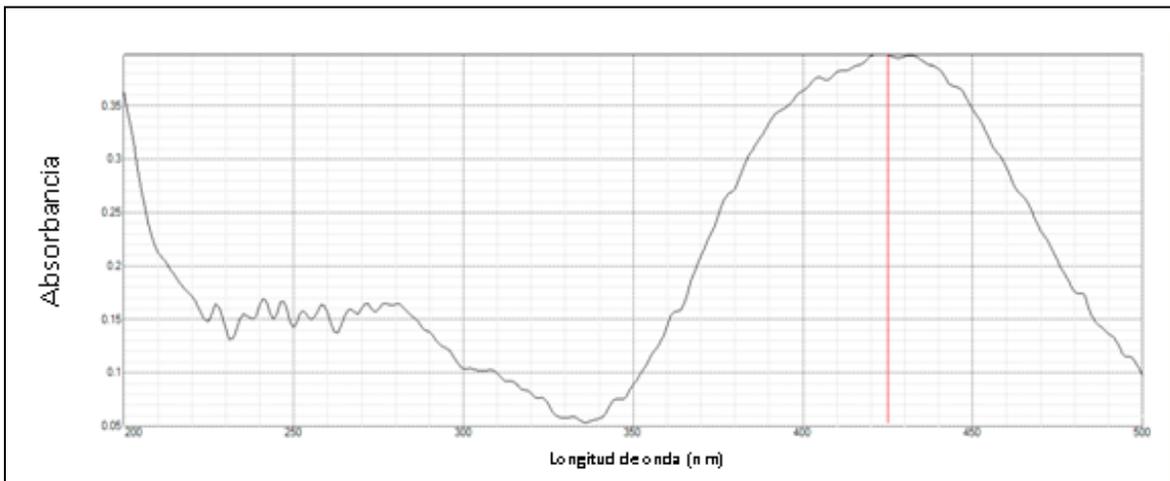


Figura 15. Espectrograma obtenido de la muestra proveniente de la mezcla de polvos + Estándar

g. Evaluación del filtro

Las absorbancias obtenidas en tres diferentes concentraciones de solución estándar (3, 5 y 7 $\mu\text{g}/\text{mL}$) sin ser sometidas a proceso de filtración y posteriormente filtradas a través de un filtro de celulosa (tabla 15); no mostraron diferencia significativa al ser comparadas entre ellas por las pruebas F de Fisher y una t de Student (Anexo B, tabla 28).

Tabla 15. Absorbancias obtenidas de solución estándar para evaluación del filtro

		Concentración solución estándar					
		3 µg/mL		5 µg/mL		7 µg/mL	
		Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Con filtro
Absorbancia		0.239	0.236	0.402	0.404	0.551	0.548
		0.238	0.241	0.399	0.401	0.550	0.550
		0.237	0.240	0.401	0.399	0.550	0.551
		0.236	0.240	0.400	0.400	0.550	0.549
		0.235	0.238	0.401	0.402	0.548	0.549
		0.237	0.237	0.399	0.400	0.547	0.549

Para las soluciones preparadas a base de la mezcla de polvos de las tabletas de HCl de fenazopiridina, las absorbancias obtenidas de tres diferentes concentraciones (3, 5 y 7µg/mL) sin ser sometidas a proceso de filtración y posteriormente filtradas a través de un filtro de celulosa (tabla 16); no mostraron diferencia significativa al ser comparadas entre ellas por las pruebas F de Fisher y una t de Student (Anexo B, tabla 29).

Tabla 16. Absorbancias obtenidas de la mezcla de polvos para evaluación del filtro

		Concentración de la muestra					
		3 µg/mL		5 µg/mL		7 µg/mL	
		Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Con filtro
Absorbancia		0.249	0.251	0.410	0.409	0.567	0.567
		0.250	0.250	0.410	0.408	0.568	0.567
		0.250	0.250	0.409	0.407	0.567	0.568
		0.249	0.250	0.408	0.407	0.571	0.566
		0.249	0.250	0.407	0.406	0.568	0.567
		0.250	0.249	0.409	0.408	0.569	0.567

C. PERFILES DE DISOLUCIÓN

Los valores obtenidos en las pruebas de disolución se encuentran en el anexo C tablas 30 a 33. A continuación se presentan los perfiles de disolución obtenidos a partir de las tabletas de HCl de fenazopiridina de las cuatro marcas comerciales, (Figura 16 a 19).

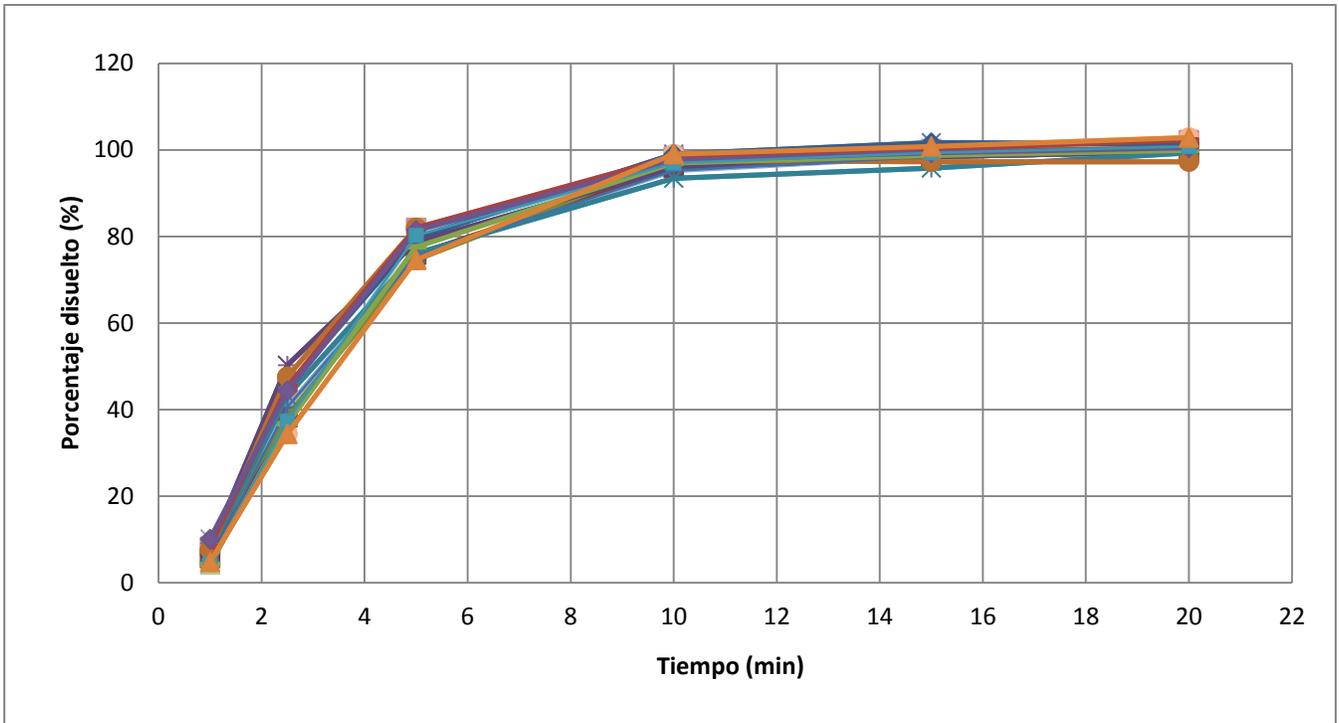


Figura 16. Perfil de disolución de tabletas de Pirimir®.

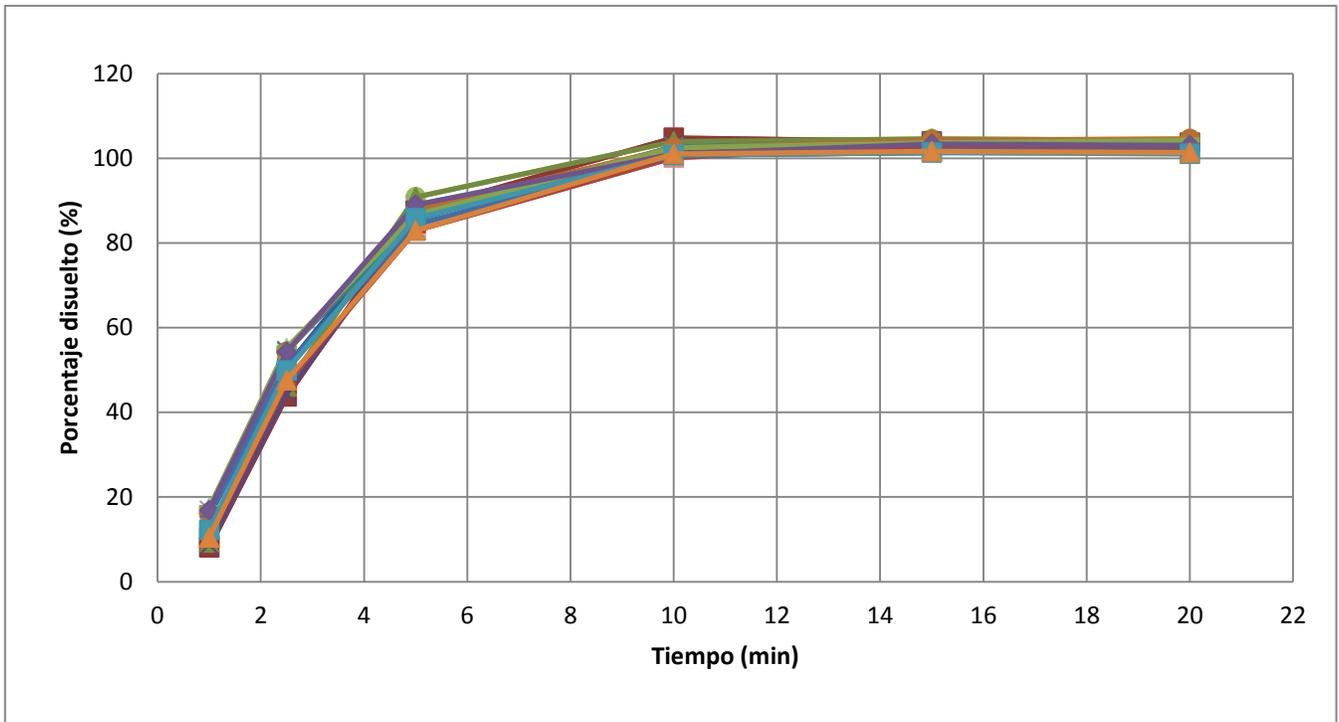


Figura 17. Perfil de disolución de tabletas de GI®.

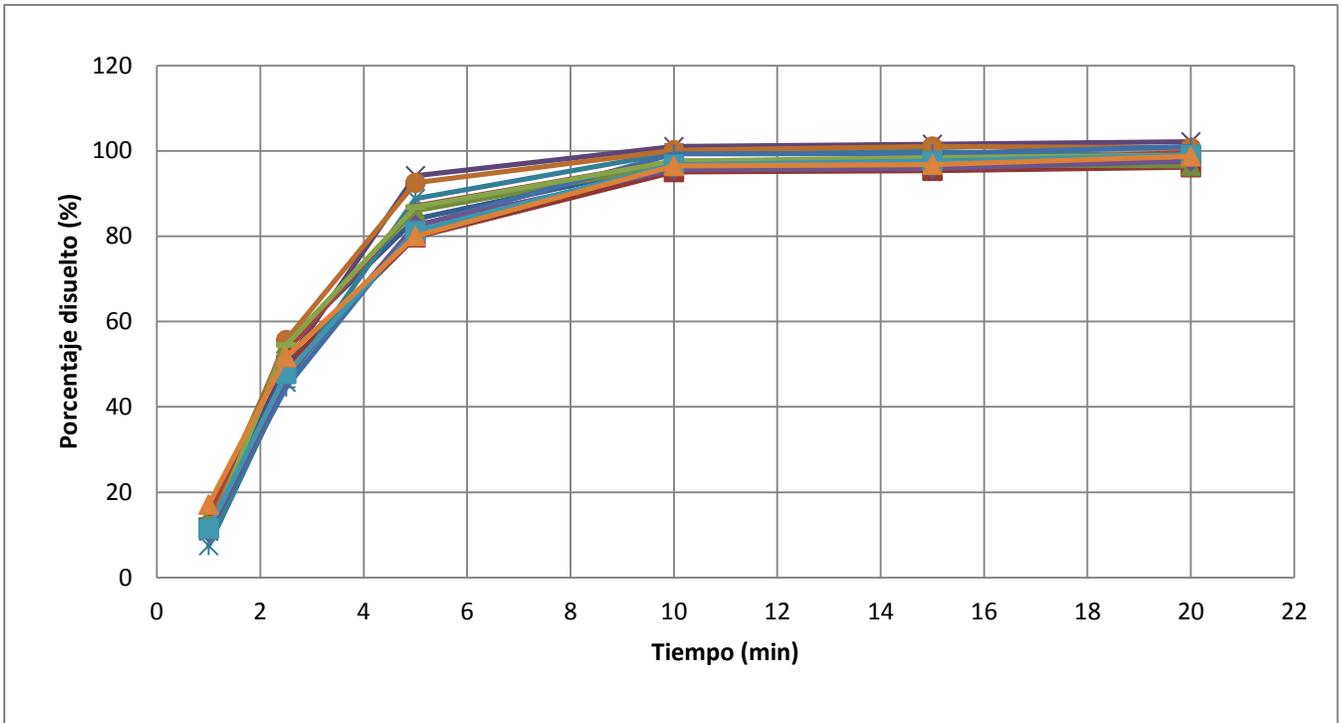


Figura 18. Perfil de disolución de tabletas de GI® para venta exclusiva de Farmacias del Ahorro.

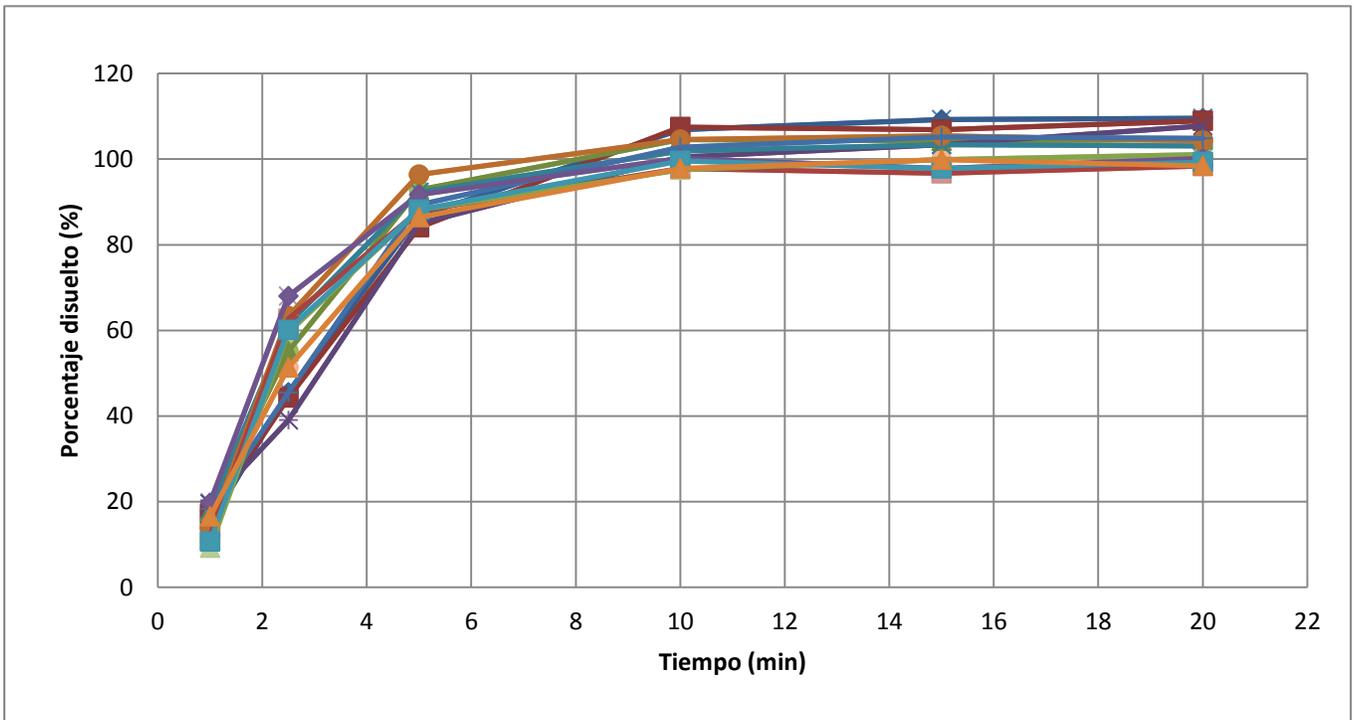


Figura 19. Perfil de disolución de tabletas de Urezol®.

En la figura 20 se muestra la comparación de los perfiles de disolución de las cuatro marcas comerciales de tabletas de HCl de fenazopiridina, en las figuras 21 a 23, se observa la comparación individual del medicamento de referencia contra los 3 genéricos.

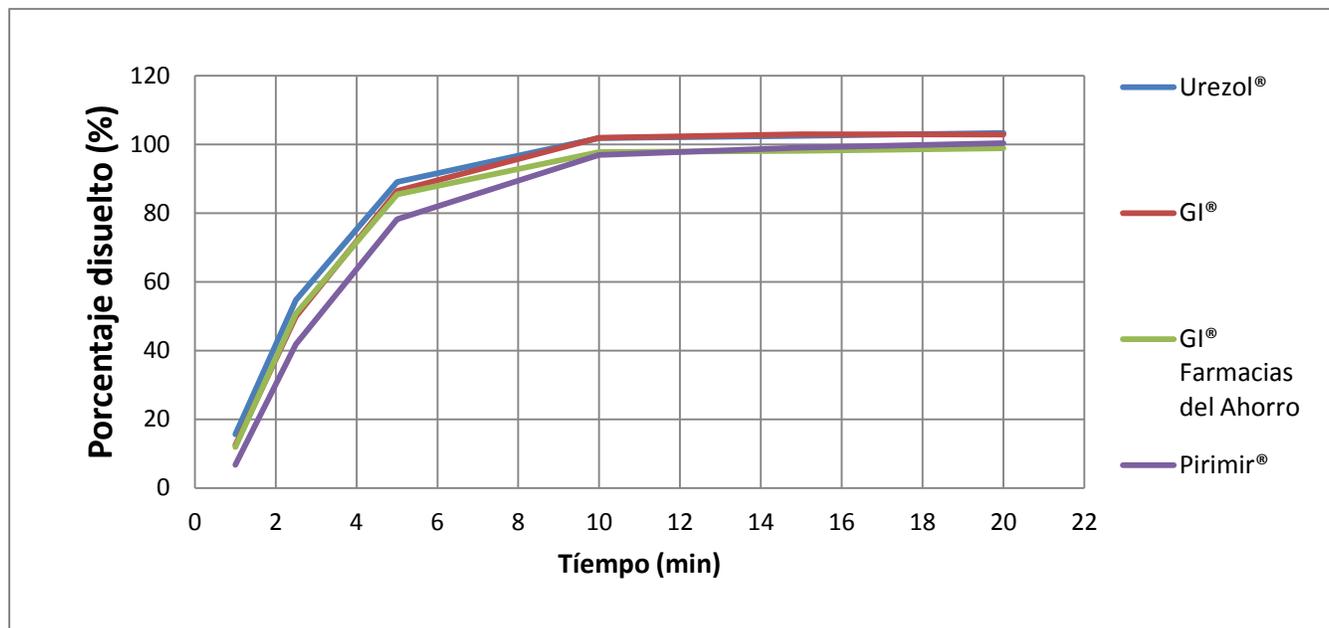


Figura 20. Promedio de los perfiles de disolución de las 4 marcas comerciales de tabletas de HCl de fenazopiridina.

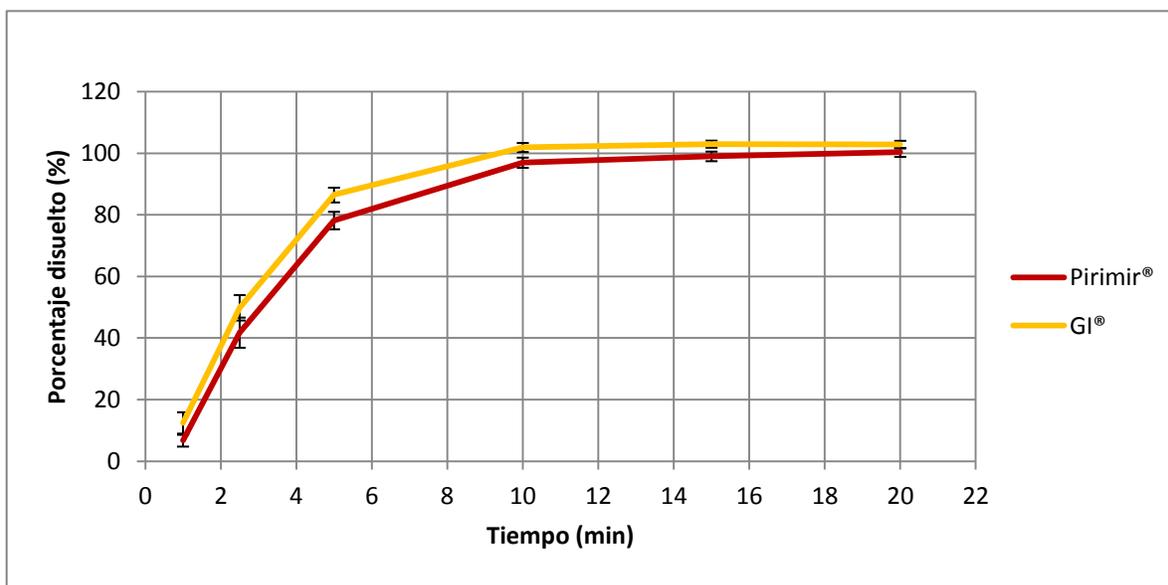


Figura 21. Comparación de promedios de los perfiles de disolución: Pimir® vs GI®.

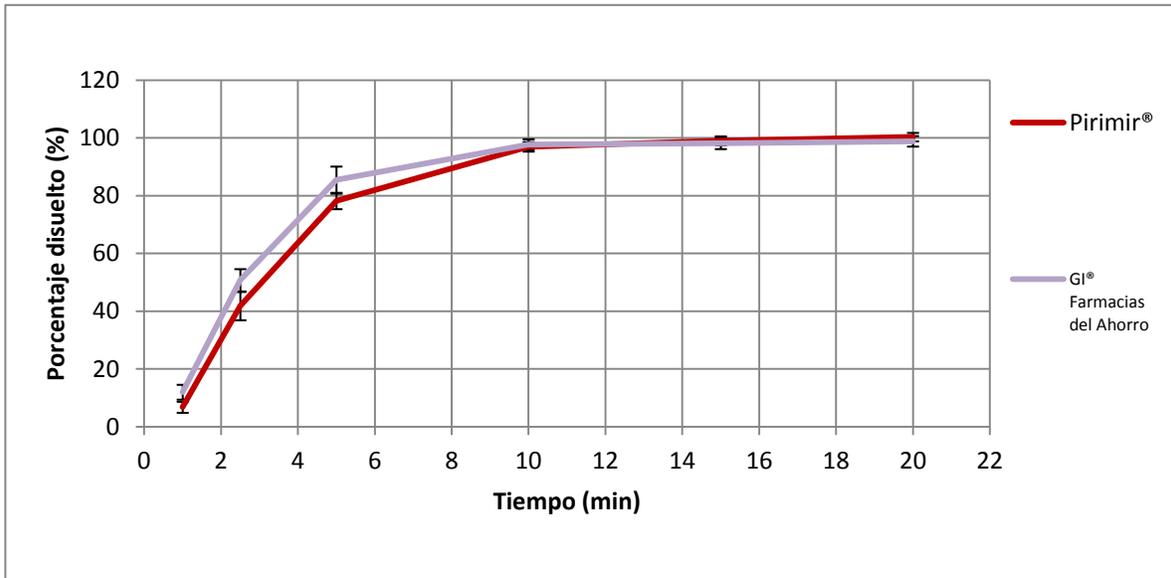


Figura 22. Comparación de promedios de los perfiles de disolución: Pimir® vs GI® Farmacias del Ahorro.

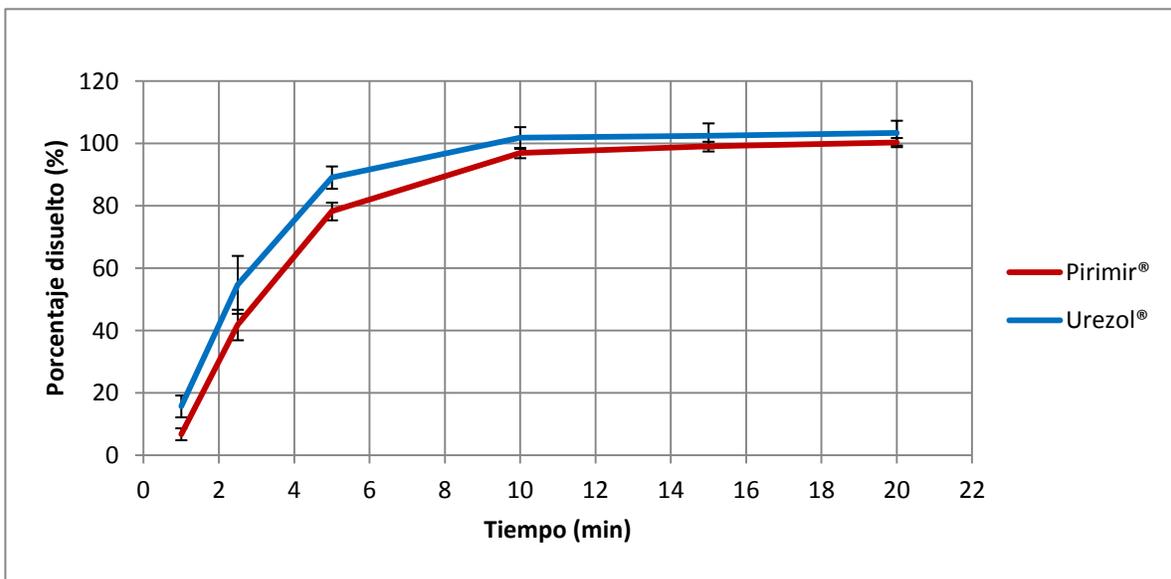


Figura 23. Comparación de promedios de los perfiles de disolución: Pimir® vs Urezol®.

1. Eficiencia de la disolución (ED)

Los valores individuales obtenidos para las eficiencias de disolución pueden observarse en el anexo D tabla 34, los valores promedio de los mismos se presentan en la Tabla 17 y su representación en un diagrama de caja y bigote para una mejor visualización y comparación en la Figura 24.

Tabla 17. Promedio, DE y CV de las eficiencias de disolución de las cuatro marcas comerciales

Tabletas	Urezol®	GI®	Del Ahorro	Pirimir®
Promedio (%)	87.141	86.069	83.170	80.808
DE	2.267	1.307	1.972	1.336
CV (%)	2.602	1.518	2.371	1.653

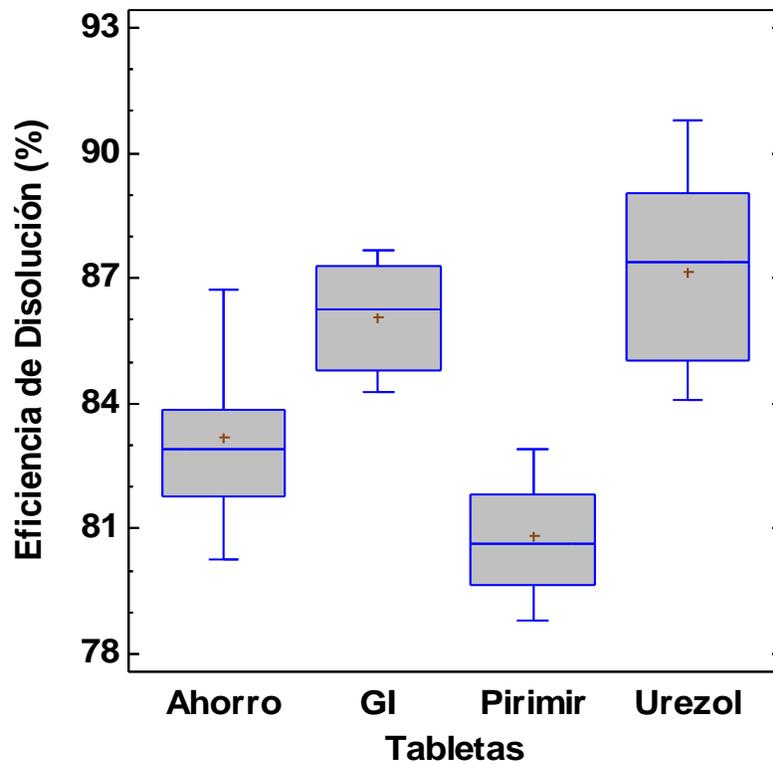


Figura 24. Diagrama de caja y bigote de las eficiencias de disolución.

2. Tiempo medio de disolución (TMD)

Los tiempos medios de disolución de las 4 formulaciones estudiadas son muy semejantes (anexo D tabla 35, Tabla 18), no detectándose una diferencia significativa entre ellos, como lo muestra la representación gráfica de los mismos en la Figura 25.

Tabla 18. Promedio, DE y CV del tiempo medio de disolución de las cuatro marcas comerciales

Tabletas	Urezol®	GI®	Del Ahorro	Pirimir®
Promedio	11.422	11.532	11.461	11.743
DE	0.180	0.070	0.084	0.111
CV (%)	1.579	0.606	0.732	0.945

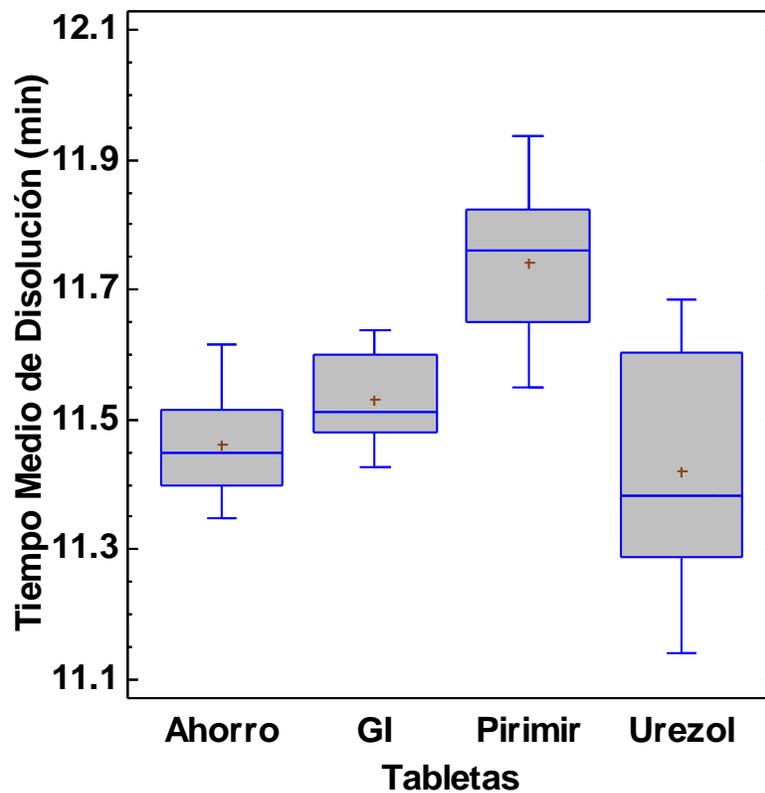


Figura 25. Diagrama de caja y bigote del TMD.

VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Inicialmente se evaluó la calidad de las tabletas de fenazopiridina de las cuatro marcas comerciales. Las pruebas realizadas fueron: descripción, friabilidad, desintegración, ensayo de identidad, valoración y uniformidad de dosis, por variación de masa. Los resultados obtenidos se aprecian en la sección de resultados, en las tablas 6 a 9.

La descripción de las características físicas de las tabletas es similar en tres de las cuatro marcas comerciales, solo las tabletas de Urezol® presentaron ciertas manchas naranjas. Esta diferencia que se puede apreciar visualmente, puede sugerir que tal vez la tableta contenga algún disolvente residual o que haya sido formulada con otro tipo de excipientes o que exista una distribución de tamaño de partícula diferente.

El resultado de la friabilidad de las tabletas en las cuatro marcas comerciales fue menor al 1%, lo que indica que las tabletas cumplen la especificación y que además son resistentes a los golpes y la abrasión que pudieran sufrir durante su manipulación, garantizando su forma y contenido.

En la prueba de dureza se obtuvieron valores de fuerza mayores de 4 Kgf, que de acuerdo a Beringer (38), el valor mínimo de fuerza para fracturar una tableta de liberación inmediata es de 4Kgf, lo cual indica que son valores aceptables, sin embargo la variación de la fuerza para fracturarlas es mayor del 5% en las cuatro marcas comerciales, en las tabletas Pimir®, GI® y GI® de Farmacias del Ahorro hubo una alta variación de la fuerza, lo cual pudo influir en su velocidad de disolución, ya que, si la tableta es muy fuerte no se desintegraría en el periodo de tiempo requerido y no reuniría las especificaciones de disolución y sí es demasiado suave, no soportaría su manejo durante manipulaciones subsecuentes. Las tabletas Urezol® al tener una fuerza para la fractura semejante, mostraron un comportamiento homogéneo al momento de determinar su perfil de disolución, lo cual indica que no se atribuye variaciones debidas al parámetro de dureza.

En la prueba de desintegración, el resultado obtenido fue similar entre las cuatro marcas comerciales, el tiempo requerido para que las tabletas perdieran su forma original fue mínimo con respecto a la especificación de 20 minutos. Es importante que una tableta de liberación inmediata, una vez tomada por el paciente, se desintegre rápidamente para formar gránulos y aumentar su superficie de contacto provocando que las partículas del fármaco sean expuestas al medio de disolución acelerando el proceso de disolución.

En el ensayo de identidad se logró apreciar que tanto el espectrograma de la solución estándar como los de las cuatro marcas comerciales tienen una respuesta (absorbancia) similar y comparable en la misma región del espectro de absorción, que está de acuerdo a la FEUM 9ª ed, el HCl de fenazopiridina absorbe energía a una longitud de onda de los 420-430 nm, lo cual confirma la presencia del principio activo en las muestras provenientes de las tabletas.

La valoración de las tabletas garantizó la cantidad de principio activo que contiene esta forma farmacéutica. En las cuatro marcas, los resultados fueron favorables, ya que se encuentran dentro del rango de aceptación, 95-105%. Mientras que en la prueba de uniformidad de dosis, que se realizó a través del método variación de

masa, se puede decir que se mantiene una dosis constante del principio activo entre las tabletas individuales de cada marca comercial, además de que se obtuvo una desviación estándar relativa menor al 6 % en cada caso.

Con todos los resultados anteriores se puede establecer entonces que la calidad de todos los medicamentos evaluados en cuanto a producto terminado cumple con los criterios farmacopeicos establecidos.

Los resultados obtenidos para la validación del método, muestran que al valorar el sistema en términos de linealidad y precisión este cumplió con los criterios de aceptación referenciados al obtenerse para el primer parámetro: coeficiente de determinación de 0.999, un error estándar de la regresión de 0.347 % y un error estándar estimado de 0.373 %, lo cual sugiere que existe una relación lineal entre la concentración de HCl de Fenazopiridina en solución estándar y la respuesta del sistema, que en este caso está dada por la absorbancia a 425 nm y en un rango de concentración de 2 a 7 $\mu\text{g/mL}$, en tanto que para el segundo término, el sistema es preciso al encontrarse un grado de dispersión pequeño entre la serie de mediciones que fueron realizados si se considera que el coeficiente de variación obtenido fue del 0.864 %.

La determinación de los parámetros analíticos para el método (linealidad, exactitud, repetibilidad, reproducibilidad, estabilidad de la muestra, selectividad y evaluación del filtro), se llevaron a cabo de acuerdo a la técnica analítica estándar adicionado; donde se manejaron concentraciones variables de la muestra y se mantuvo fija la concentración adicionada de estándar. Los motivos por los cuales se empleo esta técnica fueron los siguientes: no se conocían los excipientes que integraban a las tabletas, la cantidad de SRef de HCl fenazopiridina era limitada y las muestras obtenidas en los primeros tiempos de muestreo en los estudios piloto de disolución daban lecturas menores a 0.1 de absorbancia a una longitud de onda de 425 nm.

La linealidad del método analítico quedó demostrada al obtener, un coeficiente r^2 de 0.999 y un error debido a la regresión 0.202 %, valores menores a los que se establecen como referencia para este tipo de estudios en la normatividad vigente (23). Se considera entonces, que existe una respuesta proporcional entre la concentración obtenida y la concentración empleada.

Para la exactitud y repetibilidad del método analítico, se emplearon los mismos datos de linealidad del método, dando como resultados para exactitud valores menores al 3% en los 5 diferentes niveles de concentración empleados, lo cual indica de manera confiable que existe concordancia entre los valores experimentales y los valores de referencia. En la repetibilidad del método analítico, se obtuvieron las cantidades recuperadas de los datos de linealidad, con esto se pudo obtener un CV para estos recuperados de 1.121%, sugiriendo que existe precisión bajo las mismas condiciones de operación, de acuerdo a lo tomado en bibliografía como criterio de aceptación (23).

Para el parámetro de reproducibilidad del método, se evaluaron las condiciones analista-día, en tres diferentes niveles de concentración (3 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, y 7 $\mu\text{g/mL}$). El coeficiente de variación global de las cantidades recuperadas mostradas en la Tabla 12, fue del 2.108 %, revelando que la dispersión de la cantidad recuperada en cada muestra comparada con la cantidad recuperada promedio, no es alta y puede considerarse el método reproducible (23), no importando si la determinación se hace en cualquier día o por otro analista.

En el parámetro estabilidad de la muestra se determina la influencia de diversos factores en el medio ambiente como la temperatura y la luz que pueden acelerar la degradación de nuestro compuesto de interés, incluso, puede ocurrir que el disolvente que contiene la muestra interactúe con el principio activo presente en ésta, favoreciendo la degradación del principio activo conforme transcurre el tiempo y por consecuencia, al momento de la cuantificación se obtengan valores erróneos.

Con las consideraciones previamente descritas, se establecieron las condiciones de tiempo y almacenamiento de acuerdo al tiempo máximo que se tomaría para analizar las muestras y se definieron los niveles de concentración de las muestras (3 µg/mL, 5µg/mL, y 7µg/mL). Una vez obtenidas las lecturas de las muestras se procesó la información con un ANDEVA y se confirmó que no existían cambios significativos de concentración con respecto al tiempo. También se realizó la prueba de Dunnett tomando como grupo control el tiempo 0 y confirmó lo antes establecido con la ANDEVA, que no existen cambios significativos de concentración al menos en 24 horas y bajo refrigeración.

En la prueba de selectividad, las muestras provenientes de las tabletas y la mezcla de polvos por analizar se dividieron básicamente en dos grupos, las muestras a las cuales no se les adicionó solución estándar y las muestras a las cuales se les agregó solución estándar. A las muestras sin estándar se les realizó una ANDEVA para observar si había diferencias significativas entre las muestras de cada marca de tabletas y las muestras de la mezcla de polvos, dando como resultado que no existía diferencia entre ellas. De la misma manera, se realizó la misma operación al grupo de muestras a las cuales se les había adicionado solución estándar, y de igual manera, no se observó diferencias significativas entre muestras. Finalmente se realizó una ANDEVA final, donde se compararon ambos grupos, dando como resultado que no existía diferencias significativas entre las muestras con y sin adición de estándar. Los espectrogramas confirman lo descrito anteriormente, ya que se observa una respuesta (absorbancia) de la misma magnitud, a la misma longitud de onda en el espectro de absorción. Si existiera alguna impureza u otro compuesto que interfiriera con nuestra sustancia de interés, éste se manifestaría con la aparición de un pico más ancho o una absorbancia más alta que indicaría que este compuesto está absorbiendo energía a la misma longitud de onda del compuesto de interés. Se puede decir que nuestro método analítico es capaz de detectar y cuantificar de manera confiable la sustancia de interés, el HCl de fenazopiridina, ya que se diseñó esta prueba en base al principio de aditividad de las absorbancias, el cual indica que una absorbancia total es la suma de las absorbancias individuales; por lo que se esperaba que las absorbancias obtenidas de todas las muestras a analizar fueran similares entre sí, además de demostrar que la absorbancia a 425 nm se debe solo al HCl de fenazopiridina y no a alguna interferencia.

Para la evaluación del filtro se realizaron comparaciones entre muestras provenientes de soluciones estándar filtradas y no filtradas y, entre muestras provenientes de las tabletas filtradas y no filtradas. Primero se realizó una prueba F para determinar que las varianzas de los grupos mencionados fueran iguales, y se comprobó dicho supuesto, ya que los valores para cada prueba F se encontraron dentro del rango de aceptación. Después, se realizaron pruebas t para ambos grupos de muestras (filtradas y no filtradas) e indicaron que para las muestras hechas con estándar así como las muestras provenientes de las tabletas no hay efecto significativo a causa del filtro (Anexo B, tablas 28 y 29). Es necesario demostrar que la muestra esté libre de cualquier componente que pudiera alterar el resultado, en este caso, las partículas no disueltas provenientes de las tabletas o del medio de disolución. También es importante comprobar que el filtro no sea capaz de retener al

analito, ya que en datos no presentados se observó que con un filtro de poro cerrado la respuesta del analito disminuía; por lo que hubo que seleccionar un papel filtro de poro abierto poder llevar a cabo el proceso de filtración durante la toma de muestra.

Para la realización de los perfiles de disolución, se hizo una modificación en los tiempos de muestreo que establece la FEUM 9ª edición que son de 10, 20, 30, 45 y 60 minutos, ya que al realizar un estudio piloto, se encontró que las tabletas alcanzaban el 100% de principio activo disuelto rápidamente (segundo punto de muestreo= 20 minutos, una vez iniciada la prueba), condición poco favorable para un estudio de disolución sobre todo si se considera que la monografía para este activo marca que el Q= 75.0 % es a los 45 min. Lo anterior llevo a plantear pruebas adicionales para determinar un intervalo de tiempo más corto pero suficiente y practico experimentalmente para lograr visualizar de mejor forma un perfil de disolución de las tabletas, tal como lo plantea el requerimiento regulatorio para perfiles de disolución (23).

Con los nuevos tiempos para caracterizar el proceso de disolución de las tabletas de fenazopiridina (1, 2.5, 5, 10, 15 y 20 minutos), se logró caracterizar de mejor forma la fase exponencial y de meseta de los perfiles de disolución, lográndose establecer el máximo de disolución de principio activo disuelto alrededor del cuarto tiempo de muestreo, es decir a 10 minutos una vez iniciada la prueba. Al observar los perfiles de disolución para 12 tabletas en las 4 formulaciones (Figura 16 a 19) obtenidos no se establecen visualmente una diferencia significativa entre ellas, ya que todas mostraron una fase de desintegración, disgregación y disolución muy rápida, no pudiéndose distinguir las dos primeras (menor al minuto) con nuestros datos experimentales y la tercera llegando a su máximo a los 10 minutos al observarse una meseta en todos los perfiles.

Aún con lo anterior, no se logró cumplir con los requisitos establecidos regulatoriamente para emplear la herramienta de comparación de perfiles de disolución F2 (23) ya que en el primer tiempo de muestreo existe una dispersión de los datos mayor al 20 % en las cuatro marcas comerciales y para el segundo, en las marcas Urezol® y Pimir®, se observa una variación mayor al 10 % (ver datos en las tabla 33 a 36, anexo C), aunado al hecho que con los tiempo propuestos, solo se puede determinar dos puntos antes del 85 % disuelto de principio activo. La alta variabilidad en los resultados de los dos primeros tiempos de muestreo puede atribuirse al hecho de que estos tiempos eran muy cercanos, la toma de muestra manual, aunada al hecho de que la disolución del medicamento era rápida.

Por lo anterior, para poder comparar los perfiles de disolución, se propuso el cálculo de la eficiencia de disolución (ED), el tiempo medio de disolución (TMD) y la aplicación de un análisis estadístico para estos dos parámetros de evaluación de perfiles de disolución independientes de cinética al igual que la F2 (23). La eficiencia de disolución (ED), es una herramienta que caracteriza el perfil de liberación de un fármaco, definida como el área bajo la curva de disolución hasta un tiempo t determinado, expresado como un porcentaje del área del rectángulo resultante de la disolución del 100% en el mismo tiempo (21); el tiempo medio de disolución (TMD) es el tiempo medio para que un fármaco se disuelva bajo condiciones de disolución *in vitro* (39). Para un apreciación visual de los datos se desarrollaron gráficas de caja y bigote, en ellas se puede apreciar la dispersión y valores de tendencia central que existen, tanto en los datos de ED como en los de TMD. La figura 24 muestra los gráficos correspondientes a los datos de ED, y en la figura 25 se encuentra la representación de los datos de TMD.

En ambos casos, para el TMD y ED, el análisis de varianza mostró una F calculada mayor que la F de tablas sugiriendo una diferencia significativa entre las cuatro formulaciones. Para determinar entre cual de las formulaciones existía diferencia, se hizo una prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Encontrándose que para el caso de la ED existe diferencia entre el medicamento de referencia y las marcas genéricas, sin embargo no existe diferencia significativa entre los valores de ED entre las tabletas Urezol® y GI® de Sanofi-Aventis. Para el caso del TMD, se encontró que existe diferencia entre el medicamento de referencia y las tres marcas comerciales de genéricos, pero entre las tabletas Urezol®, GI® Sanofi-Aventis y las de venta exclusiva en Farmacias de Ahorro se logra apreciar un TMD comparable.

El HCl de fenazopiridina se encuentra clasificado dentro del grupo II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS) (4). Esta clase de fármacos se caracteriza por tener una alta permeabilidad y baja solubilidad, por lo tanto la absorción del fármaco es limitada principalmente por la disolución de éste en el tracto gastrointestinal. La disolución del fármaco *in vivo* es el paso limitante para la absorción, excepto a muy altas dosis. En base a los perfiles de disolución obtenidos, se observa que las tabletas de HCl de fenazopiridina se disuelven en un intervalo de tiempo muy corto, es decir alcanzan el 100% disuelto en un tiempo menor al establecido por la regulación vigente (3), lo que podría implicar un comportamiento del fármaco diferente en el organismo. Sí se sabe que este fármaco es altamente permeable y experimentalmente se observó que su disolución fue muy rápida, entonces se podría considerar que la velocidad de disolución no es un paso limitante para su absorción, por lo que se prevé que el fármaco se absorberá en gran medida provocando que su C_{max} sea de mayor magnitud en un menor tiempo al que se asume debería ser. Sí se siguiera un tratamiento prolongado con este medicamento, a medida que la concentración del fármaco dentro del organismo aumente debido a las siguientes dosis, también aumenta el potencial para el desarrollo de los efectos adversos o tóxicos. Para lograr un tratamiento efectivo sin efectos colaterales severos se debe mantener la concentración del fármaco dentro de un rango terapéutico delimitado por la concentración terapéutica mínima del fármaco y por la concentración máxima tolerada del fármaco. Varios estudios relacionados con la sobredosis del HCl de fenazopiridina indican que se pueden presentar diversos padecimientos como: daño renal relacionado a necrosis tubular, hemólisis con metahemoglobinemia (se evita el transporte de oxígeno a las células de los tejidos), discromía (pigmentación de la piel) y anemia hemolítica (asociado a la destrucción de células rojas) (40,41,42).

IX. CONCLUSIONES

Se realizó el control de calidad de acuerdo a la FEUM 9ªed además de pruebas complementarias como desintegración, friabilidad y dureza a las tabletas de HCl de fenazopiridina de cuatro marcas comerciales obteniendo resultados aprobatorios para las especificaciones establecidas.

El método analítico desarrollado es lineal, preciso y reproducible bajo las condiciones establecidas ya que cumplió con las especificaciones que indica la NOM-177-SSA1-1998.

Se diseñó una metodología para determinar los perfiles de disolución diferente a la establecida en la normatividad vigente ya que fue imposible reproducirla en el laboratorio, con esto se consiguió una mejor caracterización de los perfiles de disolución y una comparación más precisa.

La comparación efectuada entre los perfiles de disolución mediante modelos estadísticos independientes de cinética (ED y TMD) indican que el producto de referencia (Pirimir®) muestra diferencias significativas con respecto a las presentaciones genéricas (GI®, GI® para venta exclusiva en Farmacias del Ahorro y Urezol®).

Con la evidencia obtenida a lo largo de este estudio, se puede concluir que los lotes evaluados de las tabletas de GI®, GI® para venta exclusiva en Farmacias del Ahorro y Urezol®, no pueden ser considerados intercambiables con respecto a el lote del medicamento de referencia (Pirimir®).

X. SUGERENCIAS

Disminuir la velocidad de agitación de 50 a 20 rpm. Con esta acción se disminuye la difusión del fármaco en el medio de disolución, y por ende la velocidad de disolución de este, logrando así que la variación debida a errores sistemáticos relacionada con la toma de muestra disminuyan. Además se puede obtener una mejor caracterización de curva del perfil de disolución, y probablemente se pueda emplear F2 para la comparación de los perfiles de disolución.

Se sugiere revisar lo descrito en la FEUM 9ª ed, en lo referente a la prueba del perfil de disolución de las tabletas de HCl de fenazopiridina.

XI. ANEXOS

A. APARATOS DE DISOLUCIÓN

Tabla 19. Aparatos de disolución.

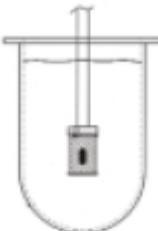
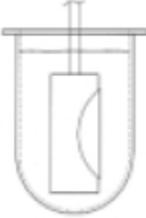
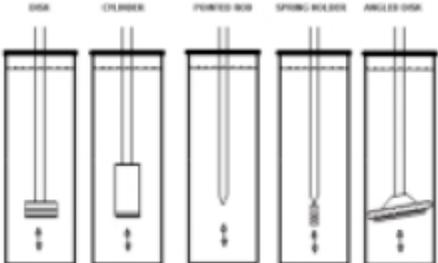
Aparato	Imagen
Aparato I Canastilla	
Aparato II Paletas	
Aparato III Cilindro recíprocante	
Aparato IV Celda de flujo continuo	
Aparato V Paleta sobre disco	

Tabla 20. Aparatos de disolución (continuación).

Aparato	Imagen
<p>Aparato VI Cilindro rotatorio</p>	
<p>Aparato VII Soporte de oscilación vertical</p>	

B. PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

A continuación se presenta la tabla 21 con los criterios de aceptación basados en la NOM-177-SSA1-1998 y los resultados obtenidos en la validación del método analítico.

Tabla 21. Tabla con los Criterios de aceptación y resultados obtenidos para la validación del método analítico.

Parámetro	Criterio de Aceptación	Resultado
<i>Sistema</i>		
<i>Linealidad</i>	Coeficiente de regresión ≥ 0.99	0.999
	Error relativo debido a la regresión $< 2 \%$	0.347 %
<i>Precisión</i>	CV del factor de respuesta $\leq 2 \%$	0.864 %
<i>Método</i>		
<i>Linealidad</i>	Coeficiente de regresión ≥ 0.99	0.999
	Error relativo debido a la regresión $< 3 \%$	0.202 %
<i>Exactitud</i>	El promedio del % de recuperación de los datos de linealidad no debe variar con respecto a la cantidad nominal más de 3 % en cada punto	0.158 % - 2.113 %
<i>Repetibilidad</i>	CV del % de recuperación de los datos de linealidad $< 3 \%$.	1.121 %
<i>Reproducibilidad</i>	CV $< 3 \%$	2.108 %
<i>Estabilidad de la muestra</i>	No deben existir cambios significativos entre resultados a través del tiempo.	No hubo cambios significativos entre resultados de absorbancia durante 24 horas en refrigeración
<i>Selectividad</i>	Cualquier interferencia no debe producir un error mayor al 3 %	0.627 % , además no existen diferencias significativas entre las absorbancias máximas obtenidas
<i>Evaluación del filtro</i>	No existen diferencias significativas entre varianzas y medias de soluciones filtradas y sin filtrar.	No existen diferencias significativas entre varianzas y medias de soluciones filtradas y sin filtrar.

Estabilidad de la muestra

Tabla 22. Análisis de varianza para determinar estabilidad de la muestra.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculada	F de tablas
Tratamiento	3	0.0002	9.14E-05	0.0047	3.0983
Error exp	20	0.3901	0.01950		
Total	23	0.3904			

Selectividad

Tabla 23. Absorbancias de muestras sin solución estándar.

Absorbancias				
Pimir	Urezol	GI	Del Ahorro	MP
0.393	0.397	0.395	0.394	0.396
0.395	0.395	0.397	0.397	0.393
0.391	0.394	0.396	0.393	0.392

A partir de los datos obtenidos en la tabla 27, se realizó un análisis de varianza (tabla 28) para determinar si había diferencia significativa entre estos grupos de datos.

Tabla 24. Análisis de varianza para valores obtenidos sin solución estándar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculada	F de tablas
Tratamiento	4	0.00002	0.000004	1.3854	3.4780
Error exp	10	0.00003	0.000003		
Total	14	0.00005			

A continuación se presenta la tabla 29 con las absorbancias obtenidas de las muestras a las cuales se les adicionó solución estándar. Se realizó el mismo análisis de varianza para determinar si había diferencia significativa entre estos grupos de datos (Tabla 30).

Tabla 25. Absorbancias de muestras con solución estándar.

Absorbancias				
Pimir	Urezol	GI	Del Ahorro	MP
0.396	0.396	0.396	0.390	0.395
0.395	0.391	0.399	0.395	0.396
0.393	0.394	0.387	0.397	0.394

Tabla 26. Análisis de varianza, para valores obtenidos con adición de solución.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculada	F de tablas
Tratamiento	4	0.00002	0.000006	1.2467	3.4780
Error exp	10	0.00005	0.000005		
Total	14	0.00007			

Como no se encontraron diferencias significativas dentro de estos grupos de valores se procedieron a compararlos, los de las muestras a las que se les adicionó solución estándar contra los valores de las muestras a las que no se les adicionó y se obtuvo el resultado que se presenta en la tabla 31.

Tabla 27. Análisis de varianza, grupo con adición de estándar vs grupo sin adición de estándar.

Muestras			Muestras + Std		
0.393	0.394	0.397	0.396	0.394	0.395
0.395	0.395	0.393	0.395	0.396	0.397
0.391	0.397	0.396	0.393	0.399	0.395
0.397	0.396	0.393	0.396	0.387	0.396
0.395	0.394	0.392	0.391	0.390	0.394
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculada	F de tablas
Tratamiento	1	0.0000012	0.000001	0.2695	3.3158
Error exp	28	0.0001247	0.000004		
Total	29	0.0001259			

Evaluación de filtro

Tabla 28. Pruebas F de Fisher y t de student para evaluación del filtro a partir de la solución estándar.

Concentración solución estándar						
3 µg/mL		5 µg/mL		7 µg/mL		
Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Con filtro	
Absorbancia	0.239	0.236	0.402	0.404	0.551	0.548
	0.238	0.241	0.399	0.401	0.550	0.550
	0.237	0.240	0.401	0.399	0.550	0.551
	0.236	0.240	0.400	0.400	0.550	0.549
	0.235	0.238	0.401	0.402	0.548	0.549
	0.237	0.237	0.399	0.400	0.547	0.549
Varianza	0.000002	3.8667E-06	1.4667E-06	3.2E-06	2.2667E-06	1.0667E-06
n	6	6	6	6	6	6
Promedio	0.237	0.239	0.400	0.401	0.549	0.549
$F_{(0.975, 5, 5)}$	7.14638183	$F_{(0.975, 5, 5)}$	7.14638183	$F_{(0.975, 5, 5)}$	7.14638183	
$F_{(0.025, 5, 5)}$	0.13993095	$F_{(0.025, 5, 5)}$	0.13993095	$F_{(0.025, 5, 5)}$	0.13993095	
F_{calc}	0.51724138	F_{calc}	0.45833333	F_{calc}	2.125	
S_p	0.0017127	S_p	0.00152753	S_p	0.00129099	
t	-1.685	t	-0.756	t	0.000	
$t_{0.975, 10}$	2.22813884	$t_{0.975, 10}$	2.22813884	$t_{0.975, 10}$	2.22813884	

Tabla 29. Pruebas F de Fisher y t de student para evaluación del filtro a partir de la solución muestra.

Concentración de la muestra						
3 µg/mL		5 µg/mL		7 µg/mL		
Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	
Absorbancia	0.249	0.251	0.410	0.409	0.567	0.567
	0.250	0.250	0.410	0.408	0.568	0.567
	0.250	0.250	0.409	0.407	0.567	0.568
	0.249	0.250	0.408	0.407	0.571	0.566
	0.249	0.250	0.407	0.406	0.568	0.567
	0.250	0.249	0.409	0.408	0.569	0.567
Varianza	0.0000003	4E-07	1.3667E-06	1.1E-06	2.2667E-06	4E-07
n	6	6	6	6	6	6
Promedio	0.250	0.250	0.409	0.408	0.568	0.567
$F_{(0.975, 5, 5)}$	7.14638183	$F_{(0.975, 5, 5)}$	7.14638183	$F_{(0.975, 5, 5)}$	7.14638183	
$F_{(0.025, 5, 5)}$	0.13993095	$F_{(0.025, 5, 5)}$	0.13993095	$F_{(0.025, 5, 5)}$	0.13993095	
F_{calc}	0.75	F_{calc}	1.24242424	F_{calc}	5.66666667	
S_p	0.00059161	S_p	0.00111056	S_p	0.0011547	
t	-1.464	t	2.080	t	2.000	
$t_{0.975, 10}$	2.22813884	$t_{0.975, 10}$	2.22813884	$t_{0.975, 10}$	2.22813884	

C. PERFILES DE DISOLUCIÓN

Resultados de los perfiles de disolución de las Tabletas de HCl de fenazopiridina.

Tabla 30. Perfil de disolución Tabletas Pimir®.

		Tiempo (min)					
		1	2.5	5	10	15	20
Porcentajes Disueltos (%)	A	6.542	45.253	79.652	99.057	101.703	101.409
	B	5.660	38.197	75.830	95.823	98.469	99.645
	C	8.895	38.491	74.654	97.587	99.645	100.527
	D	8.013	50.252	78.770	95.823	98.469	99.645
	E	7.130	43.195	76.124	93.471	95.823	99.351
	F	7.718	47.605	82.004	97.587	97.293	97.293
	G	5.072	40.549	75.536	95.235	98.469	99.645
	H	8.307	45.253	82.004	98.469	100.233	102.291
	I	4.190	36.727	77.594	96.999	98.763	99.939
	J	10.071	44.371	81.416	97.587	99.351	100.527
	K	4.484	37.315	80.240	96.999	99.351	100.821
	L	4.778	34.375	74.654	99.057	100.821	102.879
	Promedio	6.738	41.799	78.207	96.974	99.032	100.331
	DE	1.915	4.899	2.835	1.651	1.558	1.464
CV	28.419	11.721	3.625	1.703	1.573	1.459	
Max	10.071	50.252	82.004	99.057	101.703	102.879	
Min	4.190	34.375	74.654	93.471	95.823	97.293	

Tabla 31. Perfil de disolución Tabletas GI.

		Tiempo (min)					
		1	2.5	5	10	15	20
Porcentajes Disueltos (%)	A	10.117	50.757	88.181	102.215	102.215	101.922
	B	8.070	43.740	87.596	104.846	103.969	103.676
	C	9.240	46.079	90.812	103.969	104.554	104.261
	D	8.655	44.324	85.842	100.753	101.337	101.922
	E	15.087	54.558	85.549	102.799	103.969	103.676
	F	16.257	54.265	87.888	102.507	104.261	104.554
	G	15.379	51.049	84.380	100.460	102.507	101.630
	H	10.409	46.956	82.918	100.168	103.092	102.799
	I	17.426	55.142	86.719	102.507	103.676	104.261
	J	16.841	54.265	89.058	101.045	103.384	103.092
	K	12.163	49.880	85.842	100.753	101.337	101.045
	L	10.409	47.541	82.918	101.045	101.630	101.337
	Promedio	12.504	49.880	86.475	101.922	102.994	102.848
	DE	3.461	4.125	2.394	1.470	1.158	1.246
CV	27.680	8.271	2.769	1.442	1.125	1.211	
Max	17.426	55.142	90.812	104.846	104.554	104.554	
Min	8.070	43.740	82.918	100.168	101.337	101.045	

Tabla 32. Perfil de disolución Tabletas GI® venta exclusiva para Farmacias del Ahorro.

		Tiempo (min)					
		1	2.5	5	10	15	20
Porcentajes Disueltos (%)	A	13.142	54.520	83.994	97.031	97.598	97.314
	B	11.725	49.702	79.743	95.047	95.331	96.181
	C	14.276	54.803	85.978	96.748	96.748	96.464
	D	10.875	49.985	94.197	100.999	101.566	102.132
	E	7.474	45.734	88.812	99.582	99.865	98.732
	F	11.159	55.654	92.497	100.149	100.999	100.715
	G	10.592	44.601	82.294	99.298	99.298	100.999
	H	15.126	53.103	87.112	97.598	97.598	99.582
	I	10.025	54.520	86.828	97.598	98.448	99.015
	J	10.592	46.868	82.577	95.614	95.897	97.598
	K	11.442	47.718	81.160	96.748	97.598	99.015
	L	17.110	51.686	80.027	96.464	96.748	98.732
	Promedio	11.962	50.741	85.435	97.740	98.141	98.873
	DE	2.577	3.864	4.701	1.862	1.954	1.815
CV	21.546	7.615	5.503	1.905	1.991	1.835	
Max	17.110	55.654	94.197	100.999	101.566	102.132	
Min	7.474	44.601	79.743	95.047	95.331	96.181	

Tabla 33. Perfil de disolución de las Tabletas Urezol*

		Tiempo (min)					
		1	2.5	5	10	15	20
Porcentajes Disueltos (%)	A	14.795	45.494	86.719	106.893	109.232	109.524
	B	17.134	44.324	84.087	107.477	106.893	108.939
	C	17.718	55.142	92.859	104.554	104.261	104.554
	D	19.473	39.062	84.964	100.460	103.384	107.770
	E	18.303	61.575	92.274	101.922	103.384	103.092
	F	13.918	63.329	96.367	104.554	105.431	104.261
	G	18.303	45.494	89.350	102.799	105.138	104.846
	H	12.163	62.744	87.888	97.829	96.659	98.414
	I	9.240	59.528	88.181	97.537	99.876	101.045
	J	19.765	68.007	91.689	100.168	97.829	100.168
	K	10.701	60.113	88.181	99.583	97.829	99.291
	L	16.549	51.341	86.426	97.829	99.876	98.414
	Promedio	15.672	54.679	89.082	101.800	102.483	103.360
	DE	3.495	9.290	3.593	3.483	4.004	3.979
CV	22.302	16.989	4.033	3.421	3.907	3.849	
Max	19.765	68.007	96.367	107.477	109.232	109.524	
Min	9.240	39.062	84.087	97.537	96.659	98.414	

D. EVALUACIÓN DE LOS PERFILES DE DISOLUCIÓN

Tabla 34. Eficiencias de disolución.

Tabletas	Urezol®	GI®	Del Ahorro	Pirimir®
A	89.455	86.089	82.844	82.735
B	88.480	86.466	80.272	79.420
C	89.305	87.376	82.925	80.276
D	85.486	84.331	86.748	81.324
E	88.816	87.091	83.896	78.781
F	90.800	87.683	86.482	81.500
G	87.537	85.333	82.826	79.416
H	84.437	84.558	83.836	82.882
I	85.048	87.442	83.747	79.916
J	87.248	87.171	80.910	82.132
K	84.978	84.997	81.668	80.747
L	84.101	84.288	81.887	80.563
Promedio	87.141	86.069	83.170	80.808
DE	2.267	1.307	1.972	1.336
CV (%)	2.602	1.518	2.371	1.653

Tabla 35. Tiempos medios de disolución

Tabletas	Urezol®	GI®	Del Ahorro	Pirimir®
A	11.673	11.495	11.408	11.711
B	11.674	11.620	11.504	11.822
C	11.373	11.558	11.348	11.823
D	11.685	11.607	11.415	11.618
E	11.296	11.492	11.508	11.729
F	11.282	11.469	11.358	11.550
G	11.534	11.513	11.616	11.808
H	11.274	11.639	11.389	11.661
I	11.395	11.458	11.420	11.824
J	11.139	11.427	11.524	11.639
K	11.325	11.509	11.561	11.789
L	11.415	11.595	11.477	11.938
Promedio	11.422	11.532	11.461	11.743
DE	0.180	0.070	0.084	0.111
CV (%)	1.579	0.606	0.732	0.945

Para comparar los perfiles de disolución se emplearon los datos de ED y TMD, se realizó inicialmente una ANDEVA de un factor al azar tanto para los datos de ED (tabla 36) y TMD (tabla 37), dando como resultado que existen diferencias en las eficiencias de disolución, así como en los tiempos medios de disolución. Por lo que se empleó un análisis de comparaciones múltiples o prueba de Tukey para los mismos datos dando como resultado los datos que se observan en la tabla 38 y 39.

Tabla 36. ANDEVA de un solo factor al azar para ED.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculada	F de tablas
Tratamiento	3	296.0591937	98.68639791	31.52943881	2.816465827
Error	44	137.7189595	3.129976353		
Total	47	433.7781533			

Tabla 37. ANDEVA de un solo factor al azar para TMD.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculada	F de tablas
Tratamiento	3	0.735931204	0.245310401	17.28339532	2.816465827
Error	44	0.624510257	0.014193415		
Total	47	1.360441461			

Tabla 38. Prueba de Tukey para ED.

	Y.1	Y.2	Y.3	Y.4
Y.1	-	1.072342793	3.970904921	6.333209018
Y.2	-	-	2.898562128	5.260866224
Y.3	-	-	-	2.362304097
Y.4	-	-	-	-
DSH	1.93561561			

Tabla 39. Prueba de Tukey para TMD.

	Y.1	Y.2	Y.3	Y.4
Y.1	-	0.10962464	0.038296471	0.320445306
Y.2	-	-	0.071328169	0.210820666
Y.3	-	-	-	0.282148835
Y.4	-	-	-	-
DSH	0.1303443			

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gibaldi M. Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics. LEA and Febiger. 2ª edición. USA, 1977: 138-140, 145.
2. Freitag G. Guidelines on dissolution profile comparison. Drug Inf J, 35, 865-874 (2001).
3. Scheubel E. Predictive dissolution tools: Application during the formulation development [Tesis Doctoral]. Francia, Equipe de Recherche Technologique, 2010.
4. Kumaresan C. In Vitro In Vivo studies in pharmaceutical development. [Consultado 2012 Febrero 27]. Disponible en: <http://www.pharmainfo.net/reviews/vitro-vivo-studies-pharmaceutical-development>
5. Lu Y., et al. In vitro–in vivo correlation: Perspectives on model development. Int.J.Pharm.(2011).
6. Shergel C, Audrew BC. Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. Appleton & Lange. 3ª edición. USA, 1993: 27-37.
7. Cid C. Control de Calidad Biofarmacéutico de Medicamentos: Cinética de disolución de medicamentos. [Consultado 2012 Agosto 26]. Disponible en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/cide01/
8. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Dissolution testing for Immediate release solid oral dosage forms. US Department of Health and Human Services, 1997.
9. Bai G, Armenante P, Plank R, Gentzler M, Ford K, Harmon P. Hydrodynamic investigation of USP dissolution test apparatus II. J Pharm Sci, 96, 2327-2349 (2007).
10. Baxter J, Kukura J, Muzzio F. Hydrodynamics-induced variability in the USP apparatus II. Int J Pharm, 292, 17-28 (2005).
11. Tadey T, Carr G. Dissolution testing for solid oral dosage forms. Pharmaceutical Formulation and Quality. [Consultado 2012 Agosto 20]. Disponible en: <http://www.pharmaquality.com/ME2/Audiences/dirmod.asp?nm=Browse+Articles&type=Publishing&mod=Publications%3A%3AArticle&mid=D3E3C719D8D44216836DCA4F4144BEC4&tier=4&id=F1A00CB5DEE941ACACECF45D16734D0D&AudID=5648A5C28C97462DBBDB309539B820EF>.
12. Pharmacopeia Convention Inc. The United States Pharmacopeia 34/National Formulary 34. United Book Press, Baltimore USA, 2010: 278-288.
13. Shah M. Dissolution Apparatus I USP. [Consultado 2012 Agosto 20]. Disponible en: [http://pharmatips.doyouknow.in/Articles/Pharmaceutics/Tablet/Drug-Dissolution-Apparatus-I-USP-Rotating-Basket.aspx?title='Rotating Basket,USP Apparatus-I'>Drug Dissolution Apparatus-I USP \(Rotating Basket\)](http://pharmatips.doyouknow.in/Articles/Pharmaceutics/Tablet/Drug-Dissolution-Apparatus-I-USP-Rotating-Basket.aspx?title='Rotating Basket,USP Apparatus-I'>Drug Dissolution Apparatus-I USP (Rotating Basket))
14. Coleman K, Kassis A, Patel T. A Go-NoGo gauge for USP Apparatus 1 baskets. Dissolution Technologies, November (2008)

15. Shah M. Drug Dissolution Apparatus II USP. [Consultado 2012 Agosto 20]. Disponible en: [http://www.noven.com/novendoc11.pdf](http://pharmatips.doyouknow.in/Articles/Pharmaceutics/Tablet/Drug-Dissolution-Apparatus-II-USP-Paddle.aspx?title='Drug Dissolution Technology,Drug Dissolution'>Drug Dissolution Apparatus II USP (Paddle).16. Crist B. 2009 Trends in small-volume Dissolution Apparatus for low-dose compounds. <i>Dissolution Technologies</i>, February (2009).17. Brown W. Apparatus 4 flow through cell: some thoughts on operational characteristics. <i>Dissolution Technologies</i>, May (2005).18. Golem E, Johnson P, Mantelle J. Comparison of dissolution apparatus for testing transdermal systems. [Consultado 2012 Agosto 21]. Disponible en: <a href=).
19. Zhou M, Shoudt D, Calderon G, Feng M. Application of USP apparatus 7 to in vitro drug release in scopolamine transdermal systems. *Dissolution Technologies*, May (2007).
20. Aïache J, Devissaguet J. *Biofarmacia. El manual moderno*. 2ª edición. México, 1983: 163-175.
21. Costa P, Sousa J. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur J Pharm Sci*, 13, 123–133 (2001).
22. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2006, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.
23. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.
24. Swarbrick J. *Encyclopedia of PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY*. 3ª edición. Informa Healthcare. 2007: 1891-1895.
25. Gutiérrez J, Flores J, Atonal F, López J. Los medicamentos genéricos: ¿más barato por lo mismo?. *Ciencia y Cultura, Elementos*. 81(18) 41-47 (2011)
26. Asociación Mexicana de Industrias de Investigación Farmacéutica. Reformas recientes en materia de salud. [Consultado 2012 Agosto 21]. Disponible en: http://www.amiif.org/cms/images/stories/pub_amiif/p_reformas%201.pdf
27. Secretaría de Salud. Proyecto Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2008, 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.
28. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México A.C. Guía de validación de métodos analíticos. [Consultado 2012 Agosto 26]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/50104605/GUIA-DE-V>
29. Moffat A, et. al. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. Pharmaceutical Press. 3ª edición. Gran Bretaña, 2004.
30. Sweetman S. *Martindale, The Complete Drug Reference*. Pharmaceutical Press. 36ª edición. China, 2009: 116.
31. Florey K. *Analytical profiles of drug substances Vol 3*. Academic Press, USA, 1974: 470.

32. Chen Q, Li K, Zhang Z, Li P, Liu J, Li Q. Development and validation of a gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of phenazopyridine in rat plasma: application to the pharmacokinetic study. *Biopharm Drug Dispos*, 28 (8). 439-444 (2007).
33. Comisión Permanente de los Estados Unidos Mexicanos. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. Secretaría de Salud. 9ª edición. México. 2008: 1709, 1710, 292-295, 2158.
34. Pharmacopoeia Convenion, Inc. *The United States Pharmacopoeia 30/ National Formulary 25*. Rockeville, MD: U.S. Pharmacopoeia Convenion, Inc. 2007: 304. Versión en español.
35. Department of the Health Ministers. *British Pharmacopoeia*. The Stationery Office. Londres, 2003: A324.
36. Brown R, et. al. Systematic error arising from 'Sequential' Standard Addition Calibrations: Quantification and correction. *Anal Chim Acta*, 587, 158–163 (2007).
37. Bader M. A Systematic approach to standard addition methods in instrumental analysis. *J Chem Educ*, 57 (10) 703-706 (1980).
38. Beringer P, et. al. *Remington; the science and practice of pharmacy*. Lippincott Williams & Wilkins. 21ª edición. USA, 2005: 916 y 1665.
39. Gibson M. *Pharmaceutical preformulation and formulation*. Taylor & Fracis Group. USA, 2001: 255.
40. Davies D. *textbook of adverse drug reactions*. Oxford University Press. 3ª edición. USA, 1985: 294, 299, 341, 480 y 586.
41. Vega J. Falla renal aguda por fenazopiridina. *Rev. Méd. Chile*, 131 (5) 541-544 (2003).
42. Landman J, Kavalier E, Waterhouse R. acquired methemoglobinemia possibly related to phenazopyridine in a woman with normal renal function. *J Urology*, 158, 1520-1521 (1997).