



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéutica

EVALUACIÓN DEL MEDIO DE DISOLUCIÓN SOBRE LAS CINÉTICAS DE
DISOLUCIÓN DE COMPRIMIDOS DE AMOXICILINA 500 MG

Memoria para optar al Título de Químico Farmacéutico de la Universidad de Chile.

Juan Alejandro Castro Gutiérrez

Profesora Patrocinante:
Dra. María Nella Gai Hernández
Depto. de Ciencias y Tecnología Farmacéutica

Directora de Tesis
Dra. María Nella Gai Hernández

Santiago, Chile
2008

*“Dios, concédeme
Serenidad
para aceptar las cosas
que no puedo cambiar
Valor
para cambiar
aquellas que puedo,
y Sabiduría
para reconocer
la diferencia
entre estas dos cosas”*

A mi madre

AGRADECIMIENTOS

A la Profesora María Nella Gai por su guía, consejos, apoyo y paciencia, y por sobre todo permitirme la oportunidad de realizar este trabajo bajo su tutela. Al Cuerpo Docente del Laboratorio de Tecnología Farmacéutica por su disponibilidad frente a las consultas, dudas, inquietudes y problemas que se fueron presentando a lo largo del desarrollo de este trabajo. Al Equipo Técnico del Laboratorio por su ayuda, colaboración en las diversas tareas de la investigación y por hacer las jornadas de trabajo más amenas.

A mi Madre por su constante apoyo y guía, sin importar las circunstancias. Por animarme a seguir adelante sin importar los obstáculos del camino. Por su formación y por los valores que me enseñó y reforzó año tras año, cosas que han hecho de mí el hombre que soy y el futuro profesional en que me convertiré.

A la mujer que llevo en mi corazón, Francisca, por su apoyo en el término de mi carrera, por su ayuda en el desarrollo de este estudio y por estar siempre cuando la necesite tanto en lo profesional como en lo sentimental.

A mis amigos particularmente: Maximiliano, Alejandra, Mariela y Viviana, quienes fueron un apoyo constante a lo largo de la carrera, ya que siempre han estado para prestar ayuda tanto en lo académico como en lo personal.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	vii
RESUMEN	ix
SUMMARY	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO	2
2.1. Objetivos generales	2
2.2. Objetivos específicos	2
3. HIPÓTESIS	3
4. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	4
4.1. Caracterización de los productos	4
4.2. Validación de las metodologías analíticas empleadas	4
4.3. Cinéticas de Disolución	4
4.4. Evaluación de los datos obtenidos	4
5. MATERIALES	5
5.1. Materias.....	5
5.2. Equipos	5
5.3. Reactivos.....	6
6. METODOLOGÍA	8
6.1. Validaciones.....	8
6.2. Caracterización de los comprimidos	10
6.2.1. Identificación de amoxicilina.....	10
6.2.2. Valoración.....	11
6.2.3. Uniformidad de contenido ⁽¹³⁾	12
6.2.4. Test de disolución ⁽¹³⁾	13
6.2.5. Cinéticas de disolución	14
6.3. Desaireación del agua para pruebas de disolución.....	16

6.4.	Caracterización de los medios de disolución	16
7.	RESULTADOS	18
7.1.	Validación de las metodologías	18
7.1.1.	Cromatografía líquida de alta resolución	18
7.1.1.1.	Exactitud y precisión.....	18
7.1.1.2.	Especificidad.....	19
7.1.1.3.	Linealidad y rango	20
7.1.2.	Espectrofotómetro UV	21
7.1.2.1.	Medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2.....	21
7.1.2.1.1.	Exactitud y precisión.....	21
7.1.2.1.2.	Linealidad y rango	22
7.1.2.2.	Medio buffer pH 4,5.....	24
7.1.2.2.1.	Exactitud y precisión.....	24
7.1.2.2.2.	Linealidad y rango	25
7.1.2.3.	Medio buffer pH 6,8.....	26
7.1.2.3.1.	Exactitud y precisión.....	26
7.1.2.3.2.	Linealidad y rango	27
7.1.2.4.	Medio agua.....	29
7.1.2.4.1.	Exactitud y precisión.....	29
7.1.2.4.2.	Linealidad y rango	30
7.1.2.5.	Medio pH 2,5 y Fuerza Iónica 0,100.....	31
7.1.2.5.1.	Exactitud y precisión.....	31
7.1.2.5.2.	Linealidad y rango	32
7.1.2.6.	Medio pH 7,1	34
7.1.2.6.1.	Exactitud y precisión.....	34
7.1.2.6.2.	Linealidad y rango	35
7.1.2.7.	Medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,140.....	36
7.1.2.7.1.	Exactitud y precisión.....	36
7.1.2.7.2.	Linealidad y rango	37
7.2.	Caracterización de los comprimidos	38

7.3.	Identificación	39
7.4.	Valoración.....	40
7.5.	Uniformidad de contenido.....	41
7.6.	Prueba de disolución.....	41
7.7.	Cinéticas.....	43
7.7.1.	Características de los medios en estudio	43
7.7.2.	Medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2.....	44
7.7.3.	Medio buffer 4,5	45
7.7.4.	Medio buffer 6,8	46
7.7.5.	Medio agua.....	47
7.7.6.	Medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100.....	48
7.7.7.	Medio buffer pH 7,1.....	49
7.7.8.	Medio buffer pH 7,1 y fuerza iónica 0,139.....	50
7.7.9.	Comparación de los perfiles de disolución de Amoval.....	51
7.7.10.	Comparación de los perfiles de disolución de Amoxipenil.....	51
7.7.11.	Comparación de los perfiles de disolución de Amoxicilina L.Ch.....	52
7.7.12.	Factor de similitud	52
8.	DISCUSIONES	53
9.	CONCLUSIONES	55
10.	BIBLIOGRAFÍA	56
	ABREVIATURAS	58

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1: Características a evaluar según tipo de procedimiento analítico.....	8
TABLA 2: Criterios de aceptación para prueba de disolución	14
TABLA 3: Características de los productos en estudio.....	39
TABLA 4: Rf de la cromatografía en capa fina	40
TABLA 5: Exactitud y precisión HPLC.....	18
TABLA 6: Linealidad HPLC.....	20
TABLA 7: Exactitud y precisión medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2.....	21
TABLA 8: Linealidad espectrofotómetro medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2.....	23
TABLA 9: Exactitud y precisión medio buffer pH 4,5.....	24
TABLA 10: Linealidad medio buffer pH 4,5.....	25
TABLA 11: Exactitud y precisión medio buffer pH 6,8.....	26
TABLA 12: Linealidad medio buffer pH 6,8.....	28
TABLA 13: Exactitud y precisión medio agua	29
TABLA 14: Linealidad medio agua	30
TABLA 15: Exactitud y precisión medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100.....	31
TABLA 16: Linealidad medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100.....	33
TABLA 17: Exactitud y precisión medio pH 7,1	34
TABLA 18: Linealidad medio pH 7,1	35
TABLA 19: Exactitud y precisión medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,140.....	36
TABLA 20: Linealidad medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,139.....	38
TABLA 21: Valoración comprimidos.....	40
TABLA 22: Prueba disolución S ₁	41
TABLA 23: Prueba disolución Amoxicipenil (Bagó)	42
TABLA 24: Características de los medios en estudio.....	43
TABLA 25: Porcentaje de disolución en medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2.....	44
TABLA 26: Porcentajes de disolución en medio buffer 4,5.....	45
TABLA 27: Porcentajes de disolución en medio buffer pH 6,8	46
TABLA 28: Porcentajes de disolución en medio agua	47
TABLA 29: Porcentajes de disolución en medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100	48
TABLA 30: Porcentajes de disolución en medio buffer pH 7,1	49
TABLA 31: Porcentajes de disolución en medio buffer pH 7,1 y fuerza iónica 0,139	50
TABLA 32: Factor de similitud (referencia Amoval)	52
FIGURA 1: Amoxicilina trihidrato ⁽¹³⁾	2
FIGURA 2: Degradación de amoxicilina en función del pH ⁽⁹⁾	2
FIGURA 3: Curva de solubilidad de amoxicilina en función del pH ⁽⁹⁾	2
FIGURA 4: Solubilidad en función de la fuerza iónica	2
FIGURA 5: Esquema paleta aparato 2 USP	13

FIGURA 6: Identificación por TLC.....	39
FIGURA 7: Linealidad HPLC.....	20
FIGURA 8: Curva de calibración medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2	22
FIGURA 9: Curva de calibración medio buffer pH 4,5	25
FIGURA 10: Curva de calibración medio buffer pH 6,8	27
FIGURA 11: Curva de calibración medio agua	30
FIGURA 12: Curva de calibración medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100	32
FIGURA 13: Curva de calibración medio buffer pH 7,1	35
FIGURA 14: Curva de calibración medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,139	37
FIGURA 15: Perfil de disolución medio fluido gástrico sin enzimas pH 1,2	44
FIGURA 16: Perfil de disolución medio buffer 4,5	45
FIGURA 17: Perfil de disolución medio buffer pH 6,8	46
FIGURA 18: Perfil de disolución medio agua	47
FIGURA 19: Perfil de disolución medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100	48
FIGURA 20: Perfil de disolución medio buffer pH 7,1	49
FIGURA 21: Perfil de disolución medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,139	50
FIGURA 22: Perfiles de disolución en los distintos medios de Amoval	51
FIGURA 23: Perfiles de disolución en los distintos medios de Amoxipenil	51
FIGURA 24: Perfiles de disolución en los distintos medios de Amoxicilina L.Ch.....	52

RESUMEN

Los estudios de bioequivalencia *in vitro* se deben realizar en 3 medios de disolución establecidos en la guía técnica respectiva que simulan las condiciones de pH que se espera encontrar desde el estómago hasta la parte media del yeyuno. Según literatura estas condiciones no serían las más cercanas a las determinadas *in vivo*.

Este trabajo consistió en la evaluación de 3 medios experimentales en comparación con los medios oficiales. Para esto se evaluaron los perfiles de disolución de un fármaco de clase 1 según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica. Los medios experimentales fueron diseñados ajustando dos factores fundamentales como son el pH y fuerza iónica para así asemejarse más a las condiciones fisiológicas.

La amoxicilina trihidrato fue el fármaco elegido para este estudio ya que es un antibiótico de amplio espectro muy empleado por la comunidad médica. Se eligieron 3 productos de distintos laboratorios: Amoval, Amoxipenil, Amoxicilina L. Ch., tomando como referencia el producto Amoval.

Antes de comenzar con el análisis de los medios, se realizó la validación de la metodología para los controles oficiales de la USP 30 y cuantificación de perfiles de disolución de los comprimidos a utilizar, mediante los criterios estipulados en la USP 30, ICH Q2B y de la guía técnica G-BIOF 02.

La valoración y uniformidad de contenido fueron realizadas a través de la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Todos los comprimidos en estudio estuvieron dentro de los rangos estipulados. El test de disolución junto con los perfiles de disolución, fueron cuantificados a través de espectrofotometría UV-VIS. El producto Amoxipenil no pasó el test de disolución, no así el resto de los productos analizados.

Los perfiles de disolución de todos los medios en estudio, fueron comparados a través de un modelo independiente, factor de similitud (f_2). Ninguno de los productos comparados resultó ser equivalente con el de referencia. Encontrándose diferencias entre los medios experimentales y los oficiales.

SUMMARY

The *in vitro* bioequivalence studies must be done in 3 dissolution media set in the respective technical guide to simulate the conditions of pH which is expected to find from the stomach until the middle of the jejunum. According to literature these conditions would not be the closest to those identified *in vivo*.

This work involved the evaluation of 3 experimental media compared with the officials. For this is evaluated the profiles of dissolution of a drug class 1 according to the Biopharmaceutics Classification System. The experimental solutions were designed by adjusting two fundamental factors such as pH and ionic strength so as to resemble more physiological conditions.

Amoxycillin trihydrate was chosen for this study because it is a broad-spectrum antibiotic very used by the medical community. Three products were chosen from different laboratories: Amoval, Amoxipenil, Amoxicilina L. Ch., taking Amoval as reference product.

Before starting with the solutions analysis were conducted to validate the methodology for official controls of the USP 30 and quantification of profiles of dissolution of the tablets used to, using the criteria set in the USP 30, ICH Q2B and technical guide G-BIOF 02.

Assay and uniformity of content were made through the technique of high-performance liquid chromatography (HPLC). All tablets in the study were within the ranges set. Test of dissolution along with the profiles of dissolution, were quantified by UV-VIS spectrophotometer. The product Amoxipenil not pass the test of dissolution, but not the rest of the products tested.

The dissolution profiles of all media in the study were compared using a model independent factor of similarity (f_2). None of the products compared turned out to be equivalent with the reference. Differences were found between the experimental and officials media.

1. INTRODUCCIÓN

El proceso de absorción es influido por muchos factores biológicos y fisicoquímicos; de estos últimos, los más importantes, que afectan tanto a la extensión como a la velocidad de absorción, son **lipofilidad** y **solubilidad del fármaco**, y su **velocidad de liberación** desde la forma farmacéutica ⁽⁷⁾.

La combinación de fármaco y excipientes conjuntamente con las tecnologías empleadas para la obtención de formas farmacéuticas sólidas, contribuyen a que la liberación de los principios activos a veces no sea tan rápida o completa como se espera ⁽¹²⁾, afectando así a su biodisponibilidad, definida como la fracción de la dosis de un medicamento que alcanza el sitio de acción y que se relaciona tanto con la cuantía como con la velocidad a la que ocurre este proceso ^(7, 10).

Chile está entrando en el proceso de exigir estudios de bioequivalencia para los productos comercializados en el país, para así garantizar su intercambiabilidad. Dentro de estos medicamentos, existen 27 que pueden optar a una bioexención ⁽¹¹⁾, prerrogativa de la autoridad regulatoria para eximir de la obligación de tener que presentar estudios *in vivo* para el establecimiento de la equivalencia terapéutica, la cual puede demostrarse mediante estudios *in vitro* ⁽¹⁰⁾. La disolución *in vitro* es la prueba fisicoquímica más usada para estimar la liberación del principio activo y puede ser empleada tanto para evaluar variabilidad interlotes, como para predecir biodisponibilidad y establecer bioequivalencia ⁽¹⁾.

Dentro de la lista de los 27 fármacos que pueden optar a bioexención, solo existen 3 antibióticos, fármacos de alta importancia en el tratamiento de diversas infecciones:

- Amoxicilina: aminopenicilina de amplio espectro ^(3, 14)
- Cloxacilina sódica: penicilina resistente a β -lactamasas ⁽³⁾.
- Eritromicina: Macrolido utilizado como alternativa en caso de alergia las penicilinas ⁽³⁾.

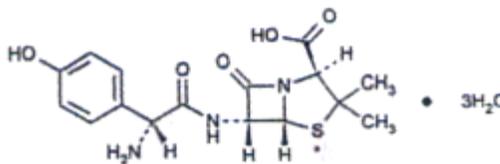


FIGURA 1: Amoxicilina trihidrato ⁽¹³⁾

La amoxicilina es un antibiótico betalactámico de amplio uso en la práctica médica, odontológica y veterinaria ⁽⁹⁾. Es una penicilina semisintética, sensible a penicilinasas, de administración oral dado que a diferencia de otras penicilinas resiste mejor el medio ácido ^(3, 14). De acción bactericida, inhibe la división celular y el crecimiento, produce lisis y elongación de las bacterias sensibles, en particular en las de rápida división ⁽³⁾. Posee una unión a proteínas del 20% y vida media de 60 a 75 minutos ^(2, 3). A diferencia de la cloxacilina, puede atravesar la barrera cefalorraquídea, alcanzando concentraciones de 5 – 10% de la concentración plasmática. Otra diferencia es que para infecciones causadas por cocos, bacilos, anaerobios, enterobacterias y pseudomonas posee una concentración mínima inhibitoria, en la mayoría de los casos, menor a la de la cloxacilina. El uso de la eritromicina está restringido a un escaso número de infecciones, siendo su uso principal como alternativa a las penicilinas, especialmente en pacientes alérgicos a ellas ⁽³⁾.

Es una molécula anfotérica ⁽¹⁴⁾, posee tres pKa: 2,4; 7,4 y 9,6. ⁽²⁾. Estudios previos han establecido que la degradación tienen un orden cinético de primer orden y la curva de solubilidad en función del pH tiene forma de “U”, aumentando su solubilidad hacia pH ácido y neutro y que la fuerza iónica del medio no afecta su solubilidad ⁽¹⁴⁾. Perteneció a la clase I (alta solubilidad y permeabilidad) en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, justificándose así la realización de bioequivalencia por medio de perfiles de disolución ⁽⁹⁾.

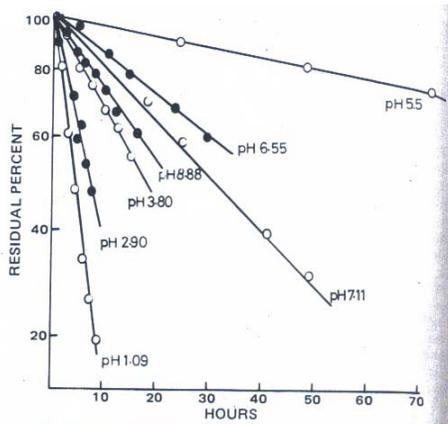


Figure 2—First-order plots for the degradation of amoxicillin (O) and epicillin (●) in the buffers of various pH values at 35° and $\mu = 0.5$.

FIGURA 2: Degradación de amoxicilina en función del pH⁽⁹⁾

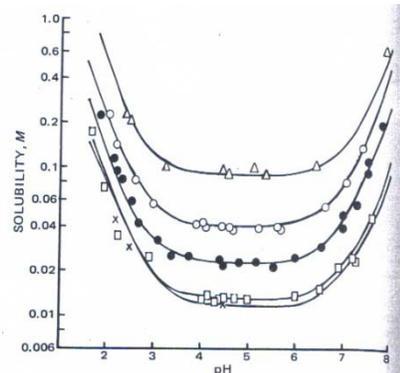


Figure 5—Solubility-pH profiles of amino penicillins at 37° and $\mu = 0.5$. The points are experimental values. The solid curves were generated from Eq. 3 and parameters listed in Table II. Key: Δ , cycloclillin anhydrate; O, ampicillin anhydrate; ●, ampicillin trihydrate; □, amoxicillin trihydrate; and X, epicillin anhydrate.

FIGURA 3: Curva de solubilidad de amoxicilina en función del pH⁽⁹⁾

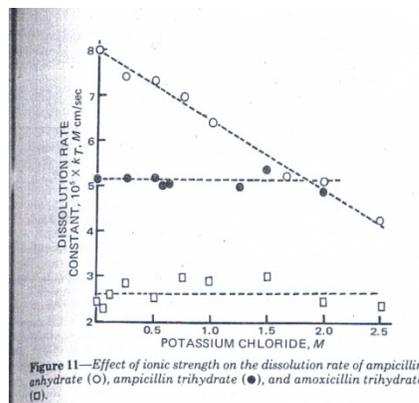


Figure 11—Effect of ionic strength on the dissolution rate of ampicillin anhydrate (O), ampicillin trihydrate (●), and amoxicillin trihydrate (□).

FIGURA 4: Solubilidad en función de la fuerza iónica

Con estos ensayos “*in vitro*” se introduce la duda de si los medios que se proponen en la literatura oficial, son realmente los más representativos para simular la situación que ocurre “*in vivo*”. La disolución del medicamento para su posterior absorción depende de varios factores y no solo del pH del medio, es por eso que en algunos ensayos de disolución, los resultados “*in vitro*” difieren considerablemente de los resultados obtenidos “*in vivo*”^(1, 8). En consecuencia, una evaluación de distintos medios que se asemejen a las condiciones fisiológicas, comparados con los medios de disolución descritos en las farmacopeas, sobre las características de disolución de estos productos que pueden optar a la bioexención, es necesaria y puede generar información relevante para apoyar los ensayos para establecer la bioequivalencia “*in vitro*”.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivos generales

Evaluar la influencia de la composición del medio de disolución sobre comprimidos de Amoxicilina

2.2. Objetivos específicos

- Validar la metodología analítica ocupada para los ensayos.
- Evaluar 3 productos de Amoxicilina 500 mg comprimidos, elaborados por diferentes laboratorios, con las normas y requisitos que establece la USP 30.
- Comparar las cinéticas de disolución obtenidas con los medios estipulados tanto en la Guía Técnica G-BIOF 02 ⁽⁶⁾ y la Norma Chilena ⁽¹⁰⁾ con medios fisiológicamente más cercanos a los medios gastrointestinales.
- Establecer las diferencias y semejanzas de los productos de los diferentes laboratorios en los medios en estudio.

3. HIPÓTESIS

La composición de los medios de disolución puede afectar la forma en la que se libera y disuelve el principio activo desde una forma farmacéutica sólida. Por lo tanto, medios diseñados que se acerquen más a las condiciones fisiológicas arrojarían resultados distintos a los obtenidos con los medios especificados en normas regulatorias para estos estudios ⁽¹⁰⁾.

4. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Caracterización de los productos

- Descripción del producto: color, forma. Características del comprimido: recubrimiento, ranurado, etc.
- Según USP 30 se establecerá: identificación, valoración, uniformidad de contenido y ensayo de disolución.

4.2. Validación de las metodologías analíticas empleadas

- Se establecerá: linealidad, exactitud y precisión según lo establecido en la Guía ICH-Q2A⁽⁵⁾

4.3. Cinéticas de Disolución

- Durante la disolución de los comprimidos en los distintos medios se irán tomando muestras para establecer la cinética del proceso.

4.4. Evaluación de los datos obtenidos

- Se compararán las curvas obtenidas en las cinéticas y se establecerán las similitudes y diferencias encontradas entre los distintos laboratorios y medios. Se utilizará el factor de similitud f_2 como medida de comparación.

5. MATERIALES

5.1. Materias

- Material de vidrio clase A de uso común en el laboratorio
- Micropipeta Labopette, Hirschmann Laborgerate, 100 – 1000 μ L
- Filtros:
 - Papel filtro: Advantec, grado n° 5A, tamaño 9,0cm
 - Membrana GV (Durapore) EM PVDF; 0,22 μ m de poro, 13 mm de diámetro, hidrofílica, blanca, lisa, 100/CX. Millipore
- Porta filtro Sweenex ® Millipore
- Jeringas plásticas de 10mL
- Mortero y pistilo
- Cubetas de cuarzo, calidad 2, tipo 1, material Q, de 1 cm.
- Parafilm “M”, Laboratory film, Pechiney Plastic Packaging
- Termómetro
- Cronómetro

5.2. Equipos

- Equipo de disolución USP, aparato 2, Hanson Research Corp.:
- Cromatógrafo HPLC
 - ✓ Bomba Merk-Hitachi, modelo L-6200
 - ✓ Detector UV – Vis: Merck-Hitachi, modelo L-4250
 - ✓ Interface Merck-Hitachi, modelo D-6000A
 - ✓ Muestreador Merck-Hitachi, modelo LaChrom L-7250
 - ✓ Software para integración HMS versión 4.0

- Columna Symmetry ® C18, 4,6 x 250 mm, 5µm, Waters
- Balanza analítica Denver Instrument
- Estufa Memmert
- Espectrofotómetro Spectronic Genesys 5, Miltonroy Company
- pH metro Model PH5J-3I
- Bidestilador de cuarzo
- Bomba de vacío Millipore, modelo XX5522050, N° de serie 0295
- Baño termostático Büchi, Laboratoriums – Technik AG.

5.3. Reactivos

- Estándar secundario de Trihidrato de Amoxicilina
 - ✓ N° de análisis: 11041
 - ✓ Valoración 98,6% base seca
 - ✓ Contenido de agua: 12,9%
 - ✓ Vencimiento: 02/2010
- Ácido Clorhídrico p.a., Merck (10 N)
- Solución Titrisol® NaOH 0,5N Merck
- Metanol p.a. Merck
- Cloroformo p.a. Merck
- Agua destilada (producción propia de la Facultad)
- Agua desaireada
- Piridina p.a. Merck
- Hidróxido de potasio p.a. Merck (≥ 85,0%)
- Fosfato monobásico de potasio p.a. Merck (≥ 99,5%)
- Acetato de sodio p.a. Winkler (99,5%)
- Ácido acético glacial p.a. Merck
- Cloruro de sodio p.a. Merck (≥ 99,5%)
- Cloruro de potasio p.a. Merck (99,5%)
- Fenolftaleína, Mallinckrodt

- Hidróxido de Sodio en lentejas p.a. Merck (> 99%)
- Acetonitrilo HPLC Merck

6. METODOLOGÍA

6.1. Validaciones

Según lo establecido por la ICH ⁽⁵⁾, los parámetros a determinar según el tipo de análisis son:

TABLA 1: Características a evaluar según tipo de procedimiento analítico

	Tipo de procedimiento analítico	
	Identificación	Ensayo
		<ul style="list-style-type: none"> • Disolución (solamente medición) • Contenido/ Potencia
Exactitud	-	+
Precisión		
• Repetitividad	-	+
Especificidad	+	+
Linealidad	-	+
Rango	-	+

- Significa que esta característica analítica no es normalmente evaluado

+ Significa que esta característica analítica es normalmente evaluado

- **Exactitud:** es la expresión de la cercanía entre el valor aceptado como verdadero y el valor encontrado ⁽⁵⁾. Se establece usando un mínimo 3 concentraciones (representativas del rango de trabajo) midiéndolas por triplicado. El resultado se informa como el porcentaje de recuperación ⁽⁴⁾ y debe encontrarse dentro del rango 95 – 105% y un coeficiente de variación igual o menor al 2%⁽⁶⁾.
- **Precisión:** es la expresión de la cercanía entre una serie de mediciones obtenidas de una misma muestra homogénea. La cual se expresa mediante desviación estándar y/o coeficiente de variación de una serie de mediciones. Para el caso de esta investigación se determinará la repetitividad, que es la expresión de la precisión bajo las mismas condiciones

de operación en un corto periodo de tiempo, determinándose así la precisión intra-ensayo ⁽⁵⁾. La determinación se realiza con un mínimo de 3 concentraciones, midiéndose por triplicado cada una de ellas. La elección de las muestra debe asegurar la representación del rango de trabajo ⁽⁴⁾. Como criterio de aceptación el coeficiente de variación debe ser no mayor al 2%⁽⁶⁾.

- Especificidad: es la habilidad de inequívocamente evaluar el analito presente de componente que pueden ser esperados en la muestra ⁽⁵⁾. Se procede a comparar los resultados de la muestra con los de un patrón ⁽⁴⁾.

- Linealidad: es la habilidad de obtener resultados directamente proporcionales a la concentración (cantidad) de analito en la muestra ⁽⁵⁾. Se debe evaluar por lo menos dentro del rango del procedimiento analítico a validar. La determinación se realiza directamente de la droga, por dilución de una solución estándar. Realizando la evaluación de la linealidad mediante una regresión lineal entre la concentración de las muestras y las lecturas del equipo correspondiente, utilizándose como parámetro el coeficiente de correlación (r) o el coeficiente de determinación (r^2) ^(4, 6). Para establecer la linealidad se deben tomar a lo menos 5 concentraciones ⁽⁴⁾. Se aceptará la linealidad si el coeficiente de determinación es mayor o igual a 0,98 ⁽⁶⁾. Adicionalmente, se calcularán los factores de respuesta.

- Rango: es el intervalo entre la mayor y menor concentración del analito en la muestra donde se ha demostrado precisión, exactitud y linealidad ⁽⁵⁾. Se determina según las concentraciones que demuestren un grado aceptable de linealidad, exactitud y precisión en los extremos del rango especificado del procedimiento analítico. El rango a demostrar dependerá del estudio que se desee realizar, siendo los siguientes los extremos mínimos a evaluar ⁽⁴⁾:
 - Ensayos de productos terminados: normalmente desde un 80 a un 120% de la concentración de la muestra.
 - Test de disolución: $\pm 20\%$ del rango en estudio.

6.2. Caracterización de los comprimidos

6.2.1. Identificación de amoxicilina

Objetivo: Este ensayo está destinado a asegurar la identidad del analito en la muestra, normalmente mediante la comparación de una propiedad entre ésta y una referencia estándar ⁽⁵⁾.

Método analítico: Según lo descrito en la USP 30 para la identificación de amoxicilina en comprimidos se empleó cromatografía en capa fina.

Soluciones: Las soluciones deben ser usadas dentro de los 10 minutos desde su preparación ⁽¹³⁾.

Solución de Referencia: Pesar una cantidad tal de amoxicilina estándar para obtener una solución final que contenga aproximadamente 4 mg/mL en ácido clorhídrico 0,1N.

Soluciones de Prueba: A una porción de tabletas pulverizadas de cada laboratorio agregar ácido clorhídrico 0,1N para obtener una solución que contenga aproximadamente 4 mg/mL.

Sistema cromatográfico:

Fase móvil: Mezcla de metanol, cloroformo, agua y piridina (90:80:30:10) ⁽¹³⁾

Fase estacionaria: Placa recubierta con capa de gel de sílice ⁽¹³⁾.

Volumen de Aplicación: Aproximadamente 10 gotas, aplicadas con pipeta pasteur.

Procedimiento: La aplicación de las muestras se realizó en una línea paralela al borde inferior (aproximadamente a 2 cm.). Tanto la solución de estándar como de los productos en estudio, deben ser preparadas con el mismo disolvente y a la misma concentración estimada. La placa debe secarse con ayuda de una corriente de aire tibio entre las aplicaciones. Para revelar la

ubicación de las muestras se emplea una solución de ninhidrina en alcohol que contenga 3 mg/mL y secado a 110° durante 15 minutos ⁽¹³⁾.

Mediante inspección visual se procedió a verificar que las muestras concordasen con el estándar y como parámetro objetivo se calculó la constante Rf, definida como el cociente entre la distancia recorrida desde el origen por la muestra y la distancia recorrida desde el origen por el frente de la fase móvil.

6.2.2. Valoración

La determinación de la cantidad de Amoxicilina por comprimido se deberá realizar por HPLC.

Soluciones

Buffer fosfato pH 5: Para la preparación se deben disolver 13.6 g de fosfato monobásico de potasio en 2000 mL de agua y ajustar con una solución de hidróxido de potasio al 45% (p/p) a pH 5.0 ± 0.1 ⁽¹³⁾

Solución de Referencia: Se pesó una cantidad tal de amoxicilina estándar para obtener una solución final que contenga aproximadamente 1 mg/mL de buffer fosfato ⁽¹³⁾.

Soluciones de Prueba: A una porción de 10 tabletas pulverizadas de cada laboratorio exactamente pesada se agregó buffer fosfato para obtener una solución que contenga aproximadamente 1 mg/mL.

Sistema cromatográfico ⁽¹³⁾.

Fase móvil: Buffer fosfato y acetonitrilo en una proporción 96/4 (mezcla filtrada por filtros diámetro 0,22 µm.

Fase estacionaria: Columna C18.

Flujo de la fase móvil: 1,5 mL/minuto.

Detector: 230 nm.

Volumen de inyección: 10 µL de las soluciones a analizar

Criterio de aceptación: los comprimidos de amoxicilina contienen no menos de 90.0% y no más de 120.0% de la cantidad declarada de Amoxicilina (C₁₆H₁₉N₃O₅S)

6.2.3. Uniformidad de contenido ⁽¹³⁾

Según lo establecido en la USP 30, la uniformidad de unidades de dosificación para los productos en estudio se realiza a través de uniformidad de contenido por tratarse de tabletas recubiertas (recubrimiento no pelicular), contener más de 25 mg de amoxicilina y ser esta más del 25% del peso total. Se realiza mediante la valoración individual de 10 unidades. Para determinar el valor de aceptación (AV) se utiliza la siguiente fórmula:

$$AV = (M - \bar{x}) + k * s$$

Donde:

M: valor de referencia el cual toma valores según el .

Si <98,5%, M=98,5

Si >101,5%, M=101,5

Si esta entre 98,5 y 101,5%, M=

: Promedio de los contenidos individuales expresados como porcentaje de la cantidad evaluada.

k: Constante de aceptabilidad, la cual toma valor de 2,4 cuando n=10, siendo n el número de muestra.

s: Desviación estándar.

Como criterio de aceptación $AV \leq 15$

6.2.4. Test de disolución ⁽¹³⁾

Medio: agua desaireada (ver 6.3); 900 mL \pm 1% medidos entre 20 y 25°C

Aparato 2: 75 rpm.

Tiempo: 30 minutos \pm 2%

Tolerancia (Q): 75%

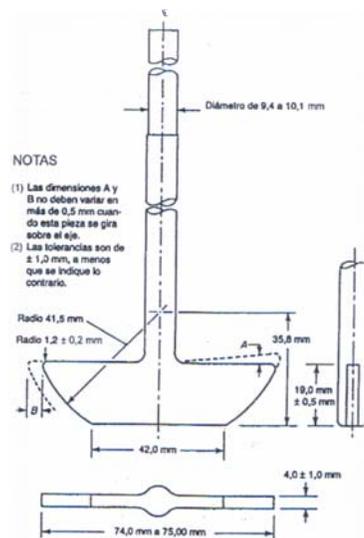


FIGURA 5: Esquema paleta aparato 2 USP

Especificaciones: El aparato 2 es aquel que cuenta con una paleta como elemento agitador. Tanto el equipo de disolución como las paletas deben cumplir con los requisitos estipulados en la USP 30. Tanto el aspa como el eje pueden estar cubiertos de un material inerte, como es el caso del equipo utilizado en este estudio. La distancia entre el fondo interno del vaso y el aspa debe ser de 25 ± 2 mm (para realizar esta operación el equipo cuenta con un dispositivo metálico con el cual las paletas quedan dentro de esta margen). La temperatura que debe mantener el medio al interior de los vasos es de $37 \pm 0.5^\circ$ C, al igual que el medio de reposición. El control de la temperatura se debe realizar de forma manual. Una vez estabilizadas las condiciones del

equipo y el medio, se procede a agregar 1 unidad de dosificación por vaso, con el espacio de tiempo necesario para, posteriormente, poder tomar las muestras dentro del tiempo establecido. La muestra se debe obtener de una zona intermedia entre la superficie del medio de disolución y la parte superior del aspa rotatoria, que no esté a menos de 1 cm de la pared del vaso.

Una vez obtenida la muestra, filtrarla, descartando aproximadamente los 2 primeros mL con el fin de ambientar el filtro y el embudo. Luego se procede a leerlas en espectrofotómetro a 230 nm, realizando diluciones, si es necesario, con el mismo medio de disolución para que las lecturas estén dentro del rango de trabajo. Posteriormente se interpolan las mediciones en la curva de calibración correspondiente con el fin de obtener la cantidad de miligramos disueltos de amoxicilina.

Los datos obtenidos se deben analizar según los criterios establecidos en la Tabla de Aceptación. Se debe continuar efectuando las 3 etapas a menos que los resultados se ajusten a S₁ o a S₂:

TABLA 2: Criterios de aceptación para prueba de disolución

Etapa	Cantidad probada	Criterio de Aceptación
S ₁	6	Ninguna unidad es menor de Q + 5%
S ₂	6	El promedio de 12 unidades (S ₁ + S ₂) es igual o mayor a Q, y ninguna unidad es menor de Q – 15%
S ₃	12	El promedio de 24 unidades (S ₁ + S ₂ + S ₃) es igual o mayor a Q, no más de 2 unidades son menores de Q – 15%, y ninguna unidad es menor de Q – 25%

6.2.5. Cinéticas de disolución

Medios:

- Fluido gástrico simulado sin enzimas, pH 1,2: pesar 4 g de cloruro de sodio, disolver con agua desaireada, agregar 14 mL de ácido clorhídrico 10N y llevar a 2 litros. La solución resultante deberá tener un pH de 1,2^(10, 13)
- Buffer acetato pH 4,5: pesar 22 g de acetato de sodio, disolver con agua desaireada, agregar 12 mL de ácido acético glacial y llevar a 4 litros. La solución resultante deberá tener un pH de 4,5^(6, 10, 13).
- Buffer fosfato pH 6,8: pesar 27,2 g de fosfato monobásico de potasio y 3,6 g de hidróxido de sodio, agregar agua desaireada hasta completar 4 litros. La solución resultante deberá tener un pH de 6,8^(6, 10, 13).
- Agua: medio compuesto sólo de agua desaireada (ver 6.3)

- Medio pH 2,5: pesar 19,2 g de cloruro de sodio y 5 g de cloruro de potasio, disolver con agua desaireada, agregar 1,6 mL de ácido clorhídrico 10N y llevar a 4 litros. La solución resultante deberá tener un pH de 2,5 y una fuerza iónica de 0,100⁽⁸⁾.
- Buffer fosfato pH 7,1: pesar 20 g de fosfato monobásico de potasio y 3,6 g de hidróxido de sodio, agregar agua desaireada hasta completar 4 litros. La solución resultante deberá tener un pH de 7,1⁽⁸⁾.
- Buffer fosfato pH 7,1: pesar 20 g de fosfato monobásico de potasio, 4 g de hidróxido de sodio y 12,5 g de cloruro de sodio, agregar agua desaireada hasta completar 4 litros. La solución resultante deberá tener un pH de 7,1 y una fuerza iónica de 0,139⁽⁸⁾.

Volumen: 900 mL \pm 1% (válido para todos los medios anteriores)

Para todas las soluciones ajustar el pH de tal forma que tenga una aproximación de 0,05 unidades respecto del pH deseado.

Aparato 2: 50 \pm 1 rpm.

El equipo debe cumplir con las mismas exigencias que en el test de disolución en lo concerniente a dimensiones, temperatura y recolección de las muestras.

Para establecer las cinéticas de disolución en los distintos medios, se deben analizar 12 comprimidos de cada laboratorio, en cada medio. El tiempo de muestreo se establece realizando cinéticas de pruebas con 1 comprimido de cada laboratorio. Al cabo de los tiempos especificados se procede a extraer una muestra de 10 mL, reemplazando la alícuota extraída para el análisis con el mismo volumen del medio de disolución nuevo a 37° C. Filtrar y leer las muestras en espectrofotómetro a 230 nm, si es necesario realizar diluciones con el medio de disolución respectivo con el objetivo de trabajar dentro del rango de la curva de calibración.

Tratamiento de los datos: para establecer la cantidad y porcentajes de disolución los datos se ingresan en una tabla diseñada para dicho efecto. Para comparar las diferentes condiciones experimentales se ocupará un método modelo independiente, factor de similitud (f2):

$$f2 = 50 \times \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \times \sum_{t=1}^n (R_t - E_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

Donde

n: número de muestras

R_t: porcentaje promedio de lo disuelto del producto de referencia al tiempo t

E_t: porcentaje promedio de lo disuelto del producto a comparar al tiempo t

El producto que se considerará como referencia para este estudio es Amoval del Laboratorio Saval. Para el cálculo del factor de similitud se considera máximo un valor sobre el 85% disuelto y se considerará que dos perfiles de disolución son similares y por tanto los productos son equivalentes terapéuticos cuando f2 sea mayor o igual a 50.

6.3. Desaireación del agua para pruebas de disolución

Se debe eliminar el aire del medio de disolución, mediante la ebullición sostenida del agua durante 30 minutos y envasándola en un envase cerrado herméticamente hasta su utilización para preparar los medios de disolución. El objetivo de este procedimiento es eliminar todas las posibles burbujas de aire las que influirán en el pH, tipo de flujo y tensión superficial de la solución, con una repercusión directa en la disolución de la forma farmacéutica en estudio

6.4. Caracterización de los medios de disolución

Con el objetivo de evaluar la influencia del medio de disolución en los perfiles de los productos, se establecieron como parámetros a evaluar pH y fuerza iónica (I) de las soluciones utilizadas. El pH fue determinado a través de un pHmetro, mientras que la fuerza iónica fue establecida mediante la siguiente ecuación:

$$I = \frac{1}{2} \sum CZ^2$$

Donde:

C: Molaridad de cada ión.

Z: Valencia de cada ión

7. RESULTADOS

7.1. Validación de las metodologías

7.1.1. Cromatografía líquida de alta resolución

7.1.1.1. Exactitud y precisión

A partir de una solución madre se prepararon 3 concentraciones por triplicado, de tal forma que fueran representativas dentro del rango de trabajo. Cada una de estas 9 muestras se midió tres veces en el equipo HPLC.

TABLA 3: Exactitud y precisión HPLC

Conc. Real [mg/mL]	Área Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,6129	2367140	5395	0,2	0,6245	101,9%
0,6129	2315435	9013	0,4	0,6116	99,8%
0,6129	2295975	5153	0,2	0,6067	99,0%
Promedio	2326183			Promedio	100,2%
SD	36780			SD	1,5%
CV	1,58			CV	1,50

Conc. Real [mg/mL]	Área Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,9631	3680814	8939	0,2	0,9545	99,1%
0,9631	3653661	7320	0,2	0,9477	98,4%
0,9631	3673281	5195	0,1	0,9526	98,9%
Promedio	3669252			Promedio	98,8%
SD	14018			SD	0,4%
CV	0,4			CV	0,4

Conc. Real [mg/mL]	Área Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
1,3133	5141289	23826	0,5	1,3213	100,6%
1,3133	5108941	5862	0,1	1,3132	100,0%
1,3133	5137887	5455	0,1	1,3205	100,5%
Promedio	5129372			Promedio	100,4%
SD	17776			SD	0,3%
CV	0,3			CV	0,3

Exactitud: el porcentaje de recuperación no excedió los límites establecidos para la prueba y el coeficiente de variación de los dichos porcentajes no excedió a 1,5.

Precisión: el coeficiente de variación no excedió el límite establecido (2%)

7.1.1.2. Especificidad

Dado que la composición de la matriz de los comprimidos es desconocida (por el hecho que la fabricación de éstos es externa al laboratorio) no se puede recrear con exactitud el efecto que tendría ésta sobre la señal de la amoxicilina.

En los cromatogramas tanto del estándar como de las muestras, sólo se observó una única señal, concordando el tiempo de retención de estándar y muestras. Por esto, se determinó que a 230 nm no existía interferencia de la matriz en el análisis.

7.1.1.3. Linealidad y rango

TABLA 4: Linealidad HPLC

Concentración [mg/mL]	Área	DS	CV	Factor respuesta
0,5253	2011835	4585	0,2	3829648
0,7004	2679455	12114	0,5	3825376
0,8756	3325591	4131	0,1	3798276
1,0507	4027618	8752	0,2	3833406
1,2258	4716728	11501	0,2	3847960
1,4009	5529234	28125	0,5	3946960
Promedio				3846937
SD				51615
CV				1,3

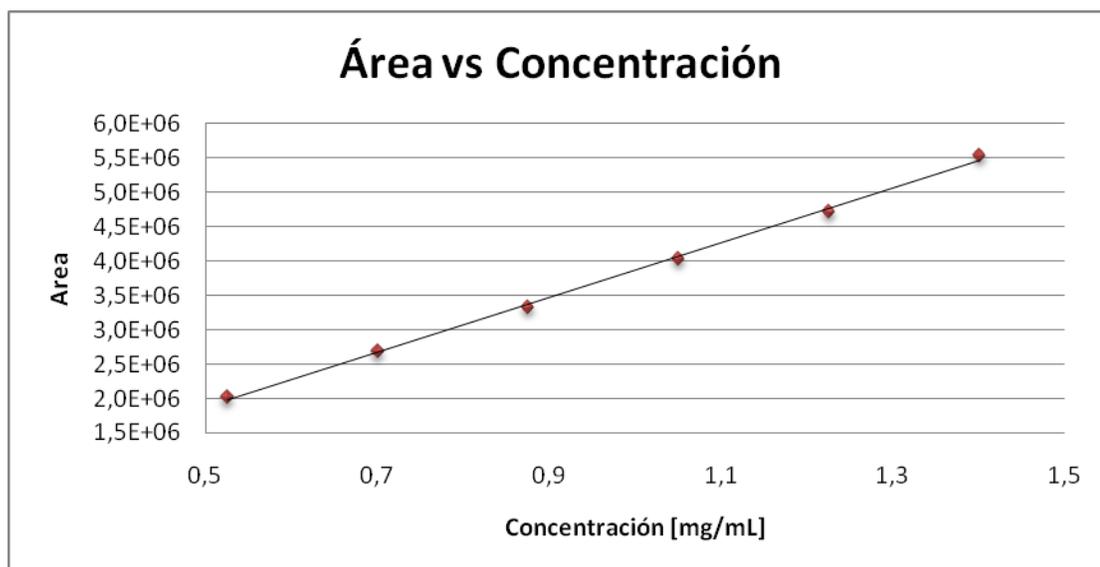


FIGURA 6: Linealidad HPLC

Mediante la regresión lineal de los datos se obtuvo la siguiente ecuación de la recta:

$$\text{Área} = 3981296 [\text{Conc. mg/mL}] - 119341$$

Con un coeficiente de correlación: $r = 0,99931$. El coeficiente de variación del factor respuesta es de 1,3%. Por lo tanto el equipo es apto para realizar los análisis en él ⁽⁶⁾.

Se determinó que el rango de trabajo en este equipo es de 0,5253 a 1,4009 mg/mL.

7.1.2. Espectrofotómetro UV

7.1.2.1. Medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2

7.1.2.1.1. Exactitud y precisión

TABLA 5: Exactitud y precisión medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0074	0,187	0,001	0,308	0,0073	99,0%
0,0074	0,187	0,001	0,308	0,0073	99,0%
0,0074	0,186	0,001	0,310	0,0072	98,5%
Promedio	0,187			Promedio	98,8%
SD	0,001			SD	0,3%
CV	0,31			CV	0,31

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0184	0,464	0,001	0,125	0,0182	98,8%
0,0184	0,462	0,001	0,125	0,0181	98,4%
0,0184	0,460	0,001	0,125	0,0180	98,1%
Promedio	0,462			Promedio	98,4%
SD	0,002			SD	0,4%
CV	0,36			CV	0,37

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0294	0,748	0,001	0,134	0,0294	99,8%
0,0294	0,750	0,001	0,077	0,0294	100,1%
0,0294	0,748	0,001	0,077	0,0293	99,8%
Promedio	0,749			Promedio	99,9%
SD	0,001			SD	0,2%
CV	0,19			CV	0,19

Tanto los porcentajes de recuperación como los distintos coeficientes de variación se encuentran dentro de los rangos establecidos para estos ensayos.

7.1.2.1.2. Linealidad y rango

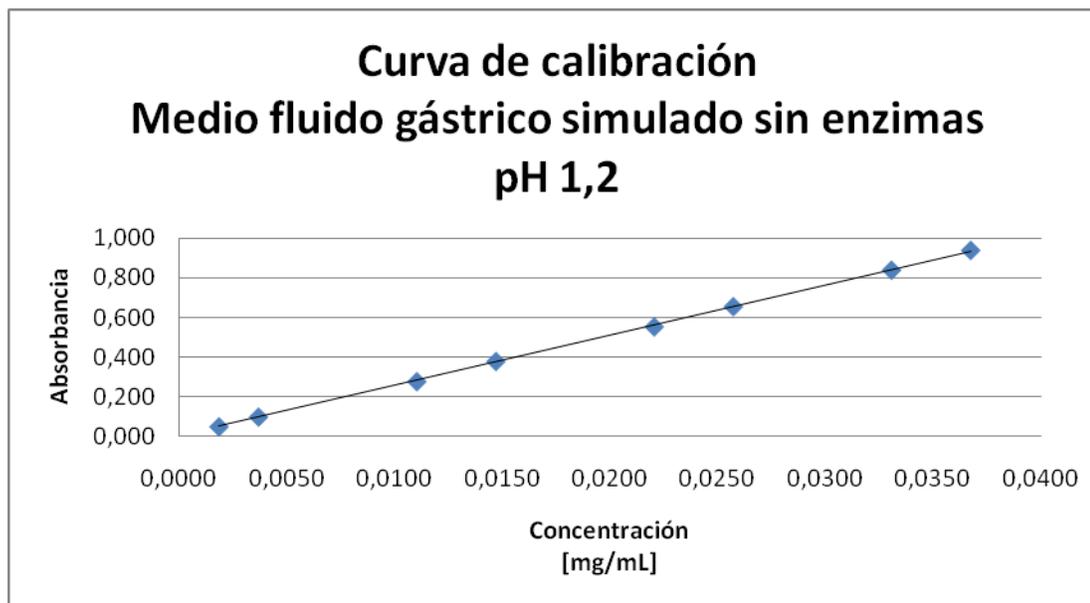


FIGURA 7: Curva de calibración medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2

TABLA 6: Linealidad espectrofotómetro medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2

Concentración [mg/mL]	Absorbancia	Factor respuesta
0,0018	0,050	27,21
0,0037	0,099	26,93
0,0110	0,278	25,21
0,0147	0,380	25,85
0,0221	0,555	25,17
0,0257	0,657	25,53
0,0331	0,841	25,42
0,0368	0,941	25,60
	Promedio	25,86
	SD	0,78
	CV	3%

La regresión lineal de los datos obtenidos da como resultado los siguientes parámetros:

- Pendiente: 25,4015
- Intersección eje Y: 0,0024
- Coef. de correlación (r): 0,9999
- Coef. de determinación (r²): 0,9998

Dado que el coeficiente de determinación es mayor a 0,98 y el coeficiente de variación del factor respuesta es 3%, se considera que el método es lineal dentro del rango de trabajo (0,0018 a 0,0368 mg/mL)

7.1.2.2. Medio buffer pH 4,5

7.1.2.2.1. Exactitud y precisión

TABLA 7: Exactitud y precisión medio buffer pH 4,5

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0105	0,278	0,001	0,416	0,0106	101,0%
0,0105	0,278	0,001	0,360	0,0106	101,1%
0,0105	0,277	0,001	0,209	0,0106	100,6%
Promedio	0,277			Promedio	100,9%
SD	0,001			SD	0,3%
CV	0,25			CV	0,26

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0210	0,559	0,001	0,103	0,0218	103,9%
0,0210	0,562	0,001	0,178	0,0219	104,4%
0,0210	0,559	0,001	0,103	0,0218	103,7%
Promedio	0,560			Promedio	104,0%
SD	0,002			SD	0,3%
CV	0,32			CV	0,32

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0280	0,716	0,002	0,213	0,0281	100,2%
0,0280	0,716	0,001	0,081	0,0281	100,1%
0,0280	0,717	0,001	0,139	0,0281	100,3%
Promedio	0,716			Promedio	100,2%
SD	0,001			SD	0,1%
CV	0,09			CV	0,09

Tanto los porcentajes de recuperación como los distintos coeficientes de variación se encuentran dentro de los rangos establecidos para estos ensayos.

7.1.2.2.2. Linealidad y rango

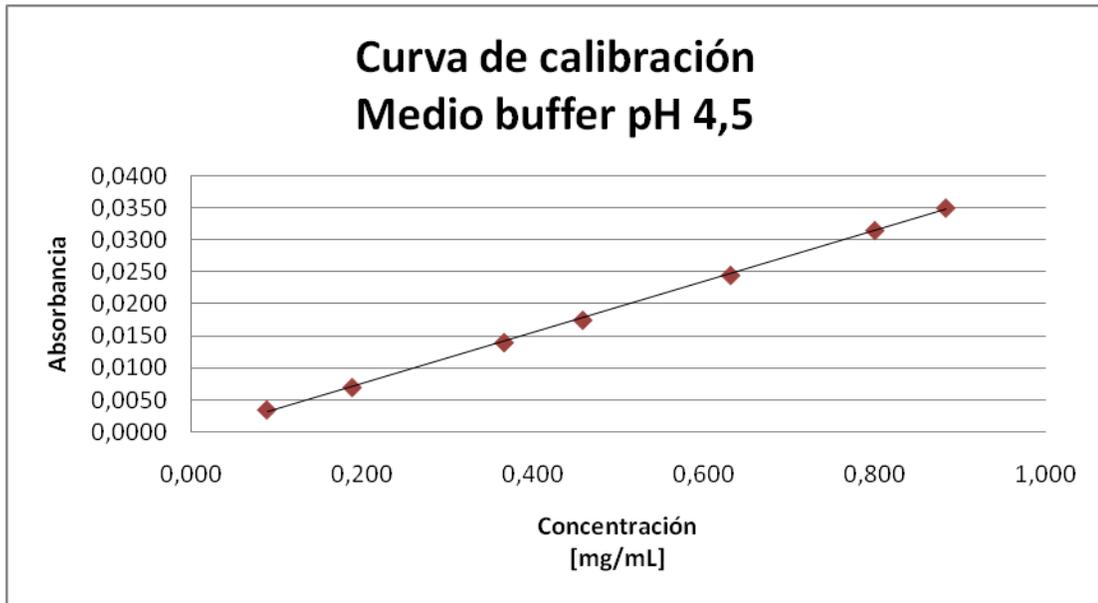


FIGURA 8: Curva de calibración medio buffer pH 4,5

TABLA 8: Linealidad medio buffer pH 4,5

Concentración [mg/mL]	Absorbancia	Factor respuesta
0,0035	0,089	25,40
0,0070	0,189	26,97
0,0140	0,367	26,18
0,0175	0,459	26,20
0,0245	0,632	25,77
0,0315	0,801	25,40
0,0350	0,884	25,23
	Promedio	25,88
	SD	0,62
	CV	2%

La regresión lineal de los datos obtenidos da como resultado los siguientes parámetros:

- Pendiente: 25,1024
- Intersección eje Y: 0,0112
- Coef. de correlación (r): 0,9998
- Coef. de determinación (r²): 0,9998

Dado que el coeficiente de determinación es mayor a 0,98 y el coeficiente de variación del factor respuesta igual al 2%, se considera que el método es lineal dentro del rango de trabajo (0,0035 a 0,0350 mg/mL)

7.1.2.3. Medio buffer pH 6,8

7.1.2.3.1. Exactitud y precisión

TABLA 9: Exactitud y precisión medio buffer pH 6,8

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0117	0,315	0,001	0,183	0,0118	101,1%
0,0117	0,314	0,001	0,318	0,0118	100,9%
0,0117	0,315	0,001	0,366	0,0119	101,3%
Promedio	0,315			Promedio	101,1%
SD	0,001			SD	0,2%
CV	0,21			CV	0,21

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0234	0,632	0,000	0,000	0,0238	101,5%
0,0234	0,633	0,001	0,158	0,0238	101,7%
0,0234	0,631	0,001	0,091	0,0237	101,4%
Promedio	0,632			Promedio	101,6%
SD	0,001			SD	0,1%

CV	0,13	CV	0,13
----	------	----	------

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0312	0,837	0,002	0,182	0,0315	100,9%
0,0312	0,838	0,001	0,119	0,0315	101,0%
0,0312	0,838	0,001	0,138	0,0315	101,0%
Promedio	0,838			Promedio	101,0%
SD	0,001			SD	0,1%
CV	0,06			CV	0,06

Tanto los porcentajes de recuperación como los distintos coeficientes de variación se encuentran dentro de los rangos establecidos para estos ensayos.

7.1.2.3.2. Linealidad y rango

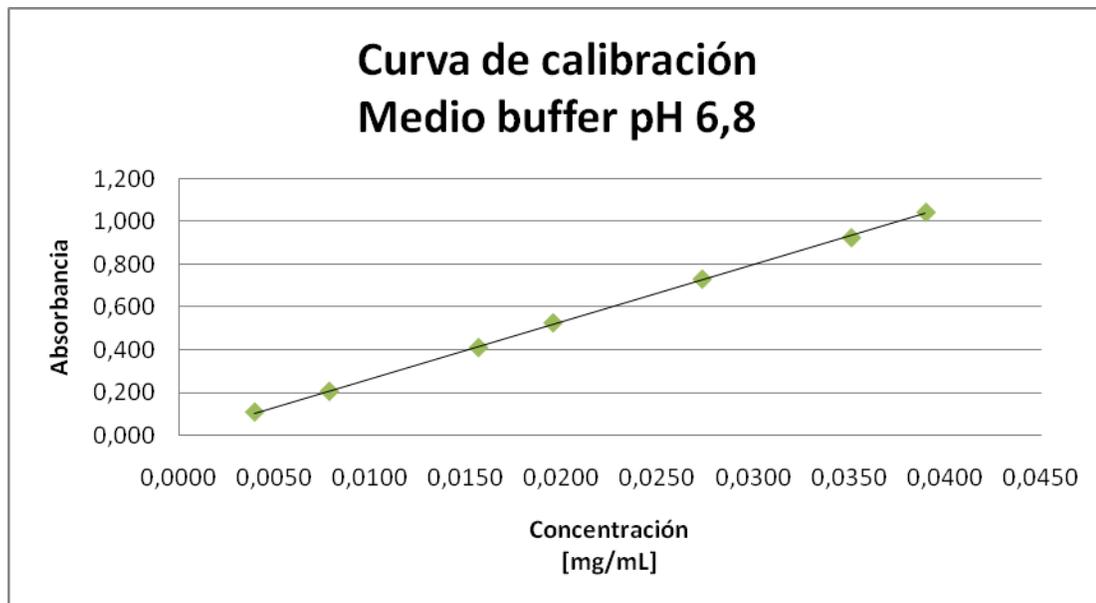


FIGURA 9: Curva de calibración medio buffer pH 6,8

TABLA 10: Linealidad medio buffer pH 6,8

Concentración [mg/mL]	Absorbancia	Factor respuesta
0,0039	0,107	27,44
0,0078	0,204	26,16
0,0156	0,409	26,22
0,0195	0,525	26,93
0,0273	0,730	26,75
0,0351	0,924	26,33
0,0390	1,043	26,75
	Promedio	26,66
	SD	0,46
	CV	2%

La regresión lineal de los datos obtenidos da como resultado los siguientes parámetros:

- Pendiente: 26,6085
- Intersección eje Y: 0,0000
- Coef. de correlación (r): 0,9998
- Coef. de determinación (r²): 0,9997

Dado que el coeficiente de determinación es mayor a 0,98 y el coeficiente de variación del factor respuesta es igual al 2%, se considera que el método es lineal dentro del rango de trabajo (0,0039 a 0,0390 mg/mL)

7.1.2.4. Medio agua

7.1.2.4.1. Exactitud y precisión

TABLA 11: Exactitud y precisión medio agua

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0116	0,317	0,003	0,912	0,0117	100,3%
0,0116	0,320	0,001	0,181	0,0118	101,3%
0,0116	0,320	0,002	0,541	0,0118	101,4%
Promedio	0,319			Promedio	101,0%
SD	0,002			SD	0,6%
CV	0,58			CV	0,60

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0233	0,632	0,000	0,000	0,0237	101,9%
0,0233	0,631	0,001	0,183	0,0237	101,8%
0,0233	0,632	0,001	0,183	0,0237	101,9%
Promedio	0,632			Promedio	101,9%
SD	0,000			SD	0,1%
CV	0,05			CV	0,05

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0311	0,836	0,004	0,431	0,0315	101,6%
0,0349	0,835	0,002	0,183	0,0315	90,2%
0,0349	0,835	0,002	0,277	0,0315	90,1%
Promedio	0,835			Promedio	94,0%
SD	0,001			SD	6,6%
CV	0,08			CV	7,00

Tanto los porcentajes de recuperación como los distintos coeficientes de variación se encuentran dentro de los rangos establecidos para estos ensayos.

7.1.2.4.2. Linealidad y rango

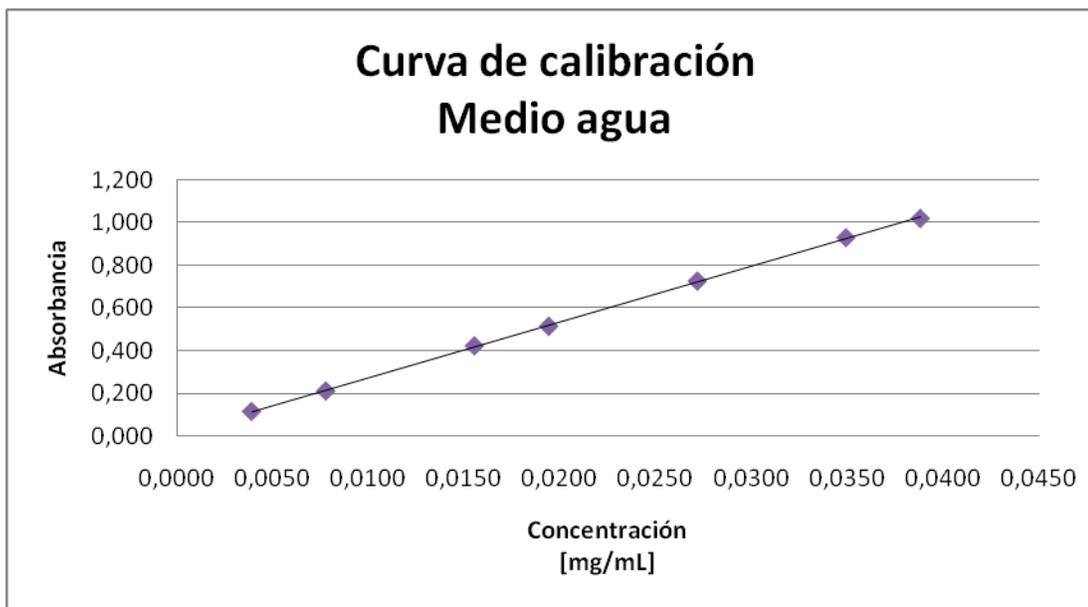


FIGURA 10: Curva de calibración medio agua

TABLA 12: Linealidad medio agua

Concentración [mg/mL]	Absorbancia	Factor respuesta
0,0039	0,114	29,37
0,0078	0,210	27,05
0,0155	0,422	27,18
0,0194	0,514	26,48
0,0272	0,726	26,72
0,0349	0,930	26,62
0,0388	1,020	26,28
	Promedio	27,10
	SD	1,05
	CV	4%

La regresión lineal de los datos obtenidos da como resultado los siguientes parámetros:

- Pendiente: 26,1519
- Intersección eje Y: 0,0112

- Coef. de correlación (r): 0,9999
- Coef. de determinación (r²): 0,9998

Dado que el coeficiente de determinación es mayor a 0,98 y el coeficiente de variación del factor respuesta es de 4%, se considera que el método es lineal dentro del rango de trabajo (0,0039 a 0,0388 mg/mL)

7.1.2.5. Medio pH 2,5 y Fuerza Iónica 0,100

7.1.2.5.1. Exactitud y precisión

TABLA 13: Exactitud y precisión medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0112	0,295	0,000	0,000	0,0111	99,5%
0,0112	0,294	0,001	0,196	0,0111	99,2%
0,0112	0,296	0,001	0,338	0,0112	99,8%
Promedio	0,295			Promedio	99,5%
SD	0,001			SD	0,3%
CV	0,28			CV	0,30

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0224	0,589	0,001	0,098	0,0227	101,6%
0,0224	0,588	0,002	0,295	0,0227	101,5%
0,0224	0,587	0,000	0,000	0,0227	101,3%
Promedio	0,588			Promedio	101,5%
SD	0,001			SD	0,1%
CV	0,14			CV	0,15

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0298	0,776	0,001	0,149	0,0301	101,0%
0,0298	0,777	0,001	0,129	0,0302	101,1%
0,0298	0,775	0,001	0,149	0,0301	100,8%
Promedio	0,776			Promedio	101,0%
SD	0,001			SD	0,2%
CV	0,16			CV	0,16

Tanto los porcentajes de recuperación como los distintos coeficientes de variación se encuentran dentro de los rangos establecidos para estos ensayos.

7.1.2.5.2. Linealidad y rango

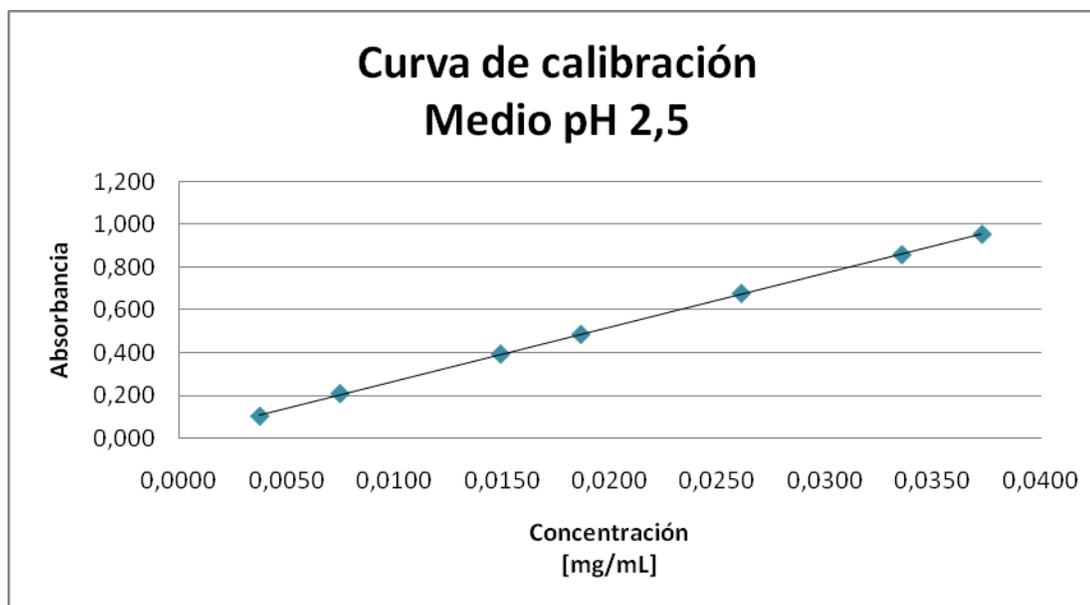


FIGURA 11: Curva de calibración medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100

TABLA 14: Linealidad medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100

Concentración [mg/mL]	Absorbancia	Factor respuesta
0,0037	0,101	27,10
0,0075	0,207	27,77
0,0149	0,393	26,36
0,0186	0,485	26,02
0,0261	0,678	25,99
0,0335	0,860	25,64
0,0373	0,956	25,65
	Promedio	26,36
	SD	0,80
	CV	3%

La regresión lineal de los datos obtenidos da como resultado los siguientes parámetros:

- Pendiente: 25,3265
- Intersección eje Y: 0,0133
- Coef. de correlación (r): 0,9999
- Coef. de determinación (r^2): 0,9998

Dado que el coeficiente de determinación es mayor a 0,98 y el coeficiente de variación del factor respuesta es de 3%, se considera que el método es lineal dentro del rango de trabajo (0,0037 a 0,0373 mg/mL)

7.1.2.6. Medio pH 7,1

7.1.2.6.1. Exactitud y precisión

TABLA 15: Exactitud y precisión medio pH 7,1

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0111	0,281	0,001	0,205	0,0110	99,0%
0,0111	0,282	0,001	0,355	0,0111	99,3%
0,0111	0,282	0,001	0,409	0,0111	99,4%
Promedio	0,282			Promedio	99,3%
SD	0,001			SD	0,2%
CV	0,18			CV	0,19

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0223	0,543	0,001	0,184	0,0217	97,4%
0,0223	0,542	0,001	0,185	0,0216	97,2%
0,0223	0,543	0,001	0,184	0,0217	97,4%
Promedio	0,543			Promedio	97,3%
SD	0,001			SD	0,1%
CV	0,11			CV	0,11

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0297	0,738	0,001	0,136	0,0296	99,8%
0,0297	0,737	0,002	0,207	0,0296	99,7%
0,0297	0,738	0,001	0,078	0,0296	99,7%
Promedio	0,738			Promedio	99,7%
SD	0,000			SD	0,0%
CV	0,045			CV	0,05

Tanto los porcentajes de recuperación como los distintos coeficientes de variación se encuentran dentro de los rangos establecidos para estos ensayos.

7.1.2.6.2. Linealidad y rango

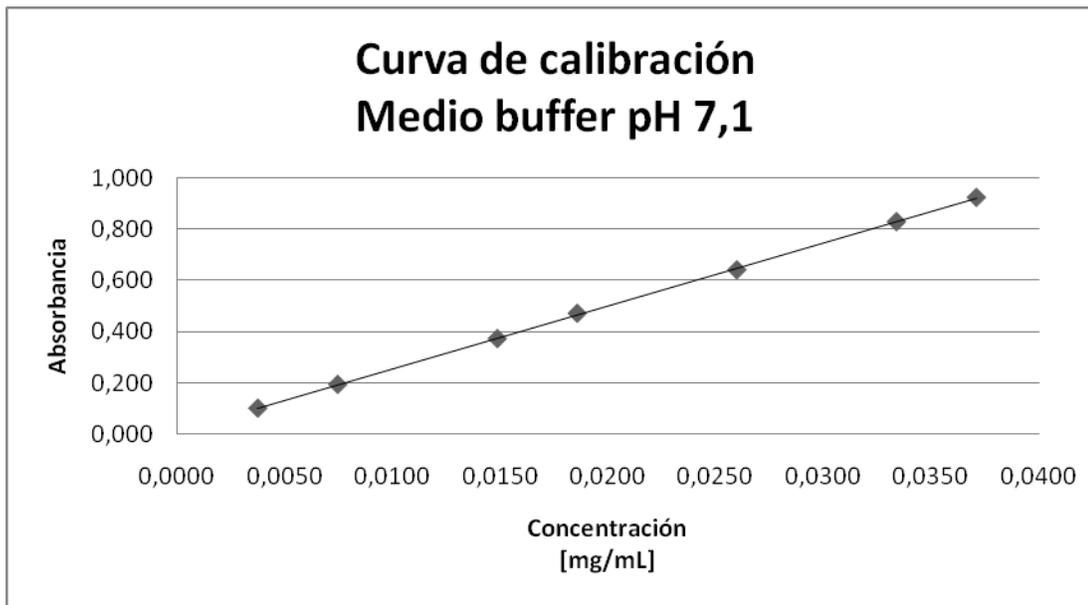


FIGURA 12: Curva de calibración medio buffer pH 7,1

TABLA 16: Linealidad medio pH 7,1

Concentración [mg/mL]	Absorbancia	Factor respuesta
0,0037	0,101	27,22
0,0074	0,194	26,15
0,0148	0,373	25,13
0,0186	0,472	25,44
0,0260	0,642	24,72
0,0334	0,830	24,86
0,0371	0,925	24,93
	Promedio	25,49
	SD	0,90
	CV	4%

La regresión lineal de los datos obtenidos da como resultado los siguientes parámetros:

- Pendiente: 24,5672
- Intersección eje Y: 0,0105

- Coef. de correlación (r): 0,9999
- Coef. de determinación (r²): 0,9998

Dado que el coeficiente de determinación es mayor a 0,98 y el coeficiente de variación en el factor respuesta de 4%, se considera que el método es lineal dentro del rango de trabajo (0,0037 a 0,0371 mg/mL)

7.1.2.7. Medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,140

7.1.2.7.1. Exactitud y precisión

TABLA 17: Exactitud y precisión medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,140

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0114	0,298	0,001	0,194	0,0114	100,0%
0,0114	0,298	0,001	0,336	0,0114	100,2%
0,0114	0,297	0,002	0,514	0,0114	99,9%
Promedio	0,298			Promedio	100,0%
SD	0,000			SD	0,1%
CV	0,11			CV	0,11

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0228	0,587	0,000	0,000	0,0227	99,5%
0,0228	0,588	0,002	0,260	0,0227	99,6%
0,0228	0,589	0,001	0,098	0,0228	99,8%
Promedio	0,588			Promedio	99,6%
SD	0,001			SD	0,1%
CV	0,14			CV	0,14

Conc. Real [mg/mL]	Absorbancia Promedio	SD	CV	Conc. Estimada [mg/mL]	Porcentaje de recuperación
0,0304	0,788	0,001	0,073	0,0305	100,4%
0,0304	0,786	0,002	0,250	0,0305	100,2%
0,0304	0,788	0,001	0,146	0,0306	100,5%
Promedio	0,787			Promedio	100,3%
SD	0,001			SD	0,1%
CV	0,14			CV	0,14

Tanto los porcentajes de recuperación como los distintos coeficientes de variación se encuentran dentro de los rangos establecidos para estos ensayos.

7.1.2.7.2. Linealidad y rango

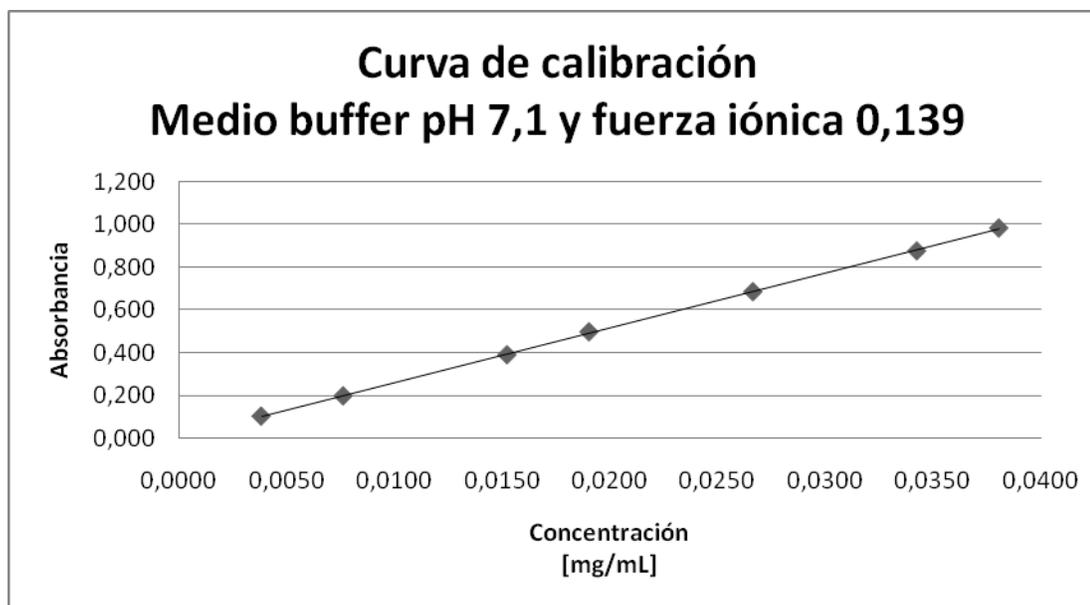


FIGURA 13: Curva de calibración medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,139

TABLA 18: Linealidad medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,139

Concentración [mg/mL]	Absorbancia	Factor respuesta
0,0038	0,104	27,34
0,0076	0,199	26,15
0,0152	0,391	25,69
0,0190	0,499	26,21
0,0266	0,686	25,76
0,0342	0,877	25,61
0,0380	0,984	25,86
	Promedio	26,09
	SD	0,59
	CV	2%

La regresión lineal de los datos obtenidos da como resultado los siguientes parámetros:

- Pendiente: 25,6132
- Intersección eje Y: 0,0052
- Coef. de correlación (r): 0,9999
- Coef. de determinación (r²): 0,9998

Dado que el coeficiente de determinación es mayor a 0,98 y el coeficiente de variación del factor respuesta es 2%, se considera que el método es lineal dentro del rango de trabajo (0,0038 a 0,0380 mg/mL)

7.2. Caracterización de los comprimidos

El principio activo contenido en los comprimidos en estudio es amoxicilina trihidrato, y se declaran 500mg de ésta por unidad de dosificación. Los pesos promedio de los comprimidos fueron el resultado de la medición individual de 10 unidades de cada laboratorio respectivamente.

TABLA 19: Características de los productos en estudio

Marca Registrada	Amoval	Amoxicilina L.Ch.	Amoxipenil
Laboratorio	Saval	Laboratorio Chile	Bago
Presentación	21 Comprimidos recubiertos		
Lote/Serie	033387	07010048	15VA
Vencimiento	10/2011	01/2010	09/2008
Descripción	Comprimidos ovalados, ranurados, color blanco, inodoro	Comprimidos ovalados, ranurados, color amarillentos, olor a plátano	Comprimidos ovalados, ranurados, color rosado, inodoro
Peso \pm DS [mg]	717,65 \pm 9,90	794,84 \pm 8,02	832,10 \pm 14,62

7.3. Identificación

Se realizaron dos placas, en donde el orden de aplicación de izquierda a derecha, en ambas placas, fue: amoxicilina estándar (St), Amoxicilina L. Ch. (1), Amoval (2) y Amoxipenil (3). En la primera placa (figura de la izquierda) la cantidad aplicada fue menor que en la segunda. Al revelar las placas según las condiciones expresadas en la USP 30 para la amoxicilina, se determinó que todas las señales de las muestras en estudio concordaban con las obtenidas a partir de la solución de referencia.

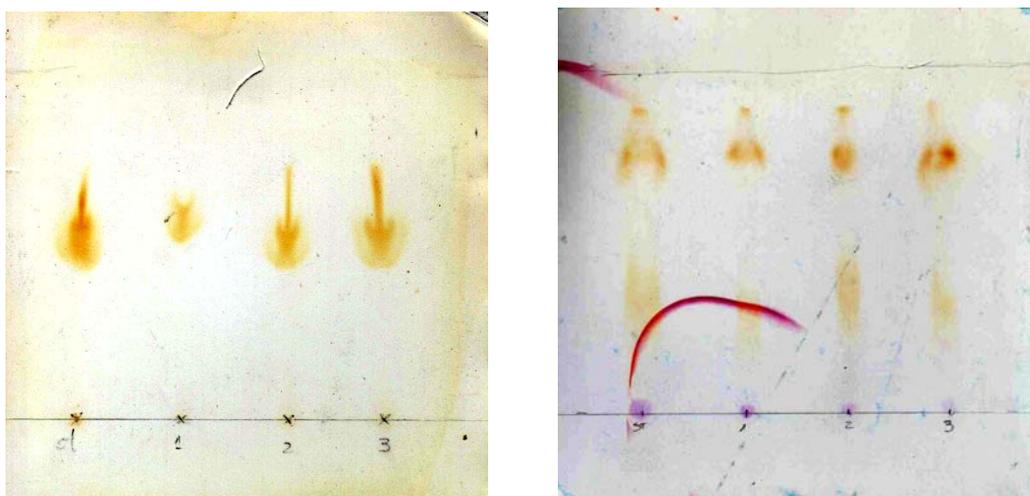


FIGURA 14: Identificación por TLC

TABLA 20: Rf de la cromatografía en capa fina

Productos	Rf placa 1	Rf placa 2
Amoxicilina estándar	0,61	0,76
Amoxicilina L. Ch.	0,62	0,78
Amoval	0,58	0,76
Amoxipenil	0,58	0,75

Dados los Rf para cada una de las muestras se puede afirmar que los productos en análisis efectivamente contienen amoxicilina.

7.4. Valoración

TABLA 21: Valoración comprimidos

Producto	Muestra	Área	DS	CV	Porcentaje	
	[mg]	Promedio			obtenido	
Amoval	Muestra	295,13	4057410	50633	1,25%	102,5%
	Contramuestra	274,10	3727457	27084	0,73%	101,4%
Amoxicilina L.Ch.	Muestra	323,83	3943032	4999	0,13%	100,6%
	Contramuestra	321,35	3894970	60747	1,56%	100,1%
Amoxipenil	Muestra	353,87	4180064	44556	1,07%	102,2%
	Contramuestra	345,12	3939534	55067	1,40%	98,7%

Los porcentajes obtenidos en la valoración tanto de la muestra como en su contramuestra cumplen con lo estipulado en la USP 30 para este producto.

7.5. Uniformidad de contenido

TABLA 22: Uniformidad de contenido

Producto	CV	AV
Amoval	0,77	1,84
Amoxicilina L.Ch.	0,32	0,77
Amoxipenil	2,42	5,81

Los tres productos cumplen con la uniformidad de contenido ya que en ninguno de los casos el valor aceptado (AV) es mayor o igual 15.

7.6. Prueba de disolución

Se midieron inicialmente 6 comprimidos de cada producto utilizando las condiciones anteriormente establecidas:

TABLA 23: Prueba disolución S_1

N°	Amoval	Amoxipenil	Amoxicilina L.Ch.
1	100%	63%	93%
2	96%	71%	89%
3	93%	71%	87%
4	98%	65%	100%
5	93%	60%	98%
6	97%	76%	95%

En la etapa S_1 , amoxipenil no cumple este análisis y dado los valores dados se procede pasar directamente a S_3 .

TABLA 24: Prueba disolución Amoxipenil (Bagó)

N°	Amoxipenil
1	63%
2	71%
3	71%
4	65%
5	60%
6	76%
7	68%
8	67%
9	66%
10	82%
11	65%
12	64%
13	70%
14	65%
15	69%
16	70%
17	68%
18	73%
19	67%
20	71%
21	68%
22	62%
23	68%
24	72%
Promedio	68%

Tanto el Laboratorio Saval como el Laboratorio Chile cumplen con la prueba de disolución en la etapa S₁, ya que ninguna de las seis unidades analizadas de cada uno fue inferior al 80%. Los comprimidos del Laboratorio Bagó no pasaron la prueba de disolución en la etapa S₃ ya que el promedio de las 24 unidades fue inferior al 75%.

7.7. Cinéticas

Para la determinación de tiempo de muestreo, se realizaron previamente cinéticas de pruebas en los tres medios oficiales en 1 unidad de cada producto en estudio. Se escogieron los puntos de tal forma que se pudiese establecer comparaciones entre los productos en el mismo medio y el efecto del medio en cada uno de los productos.

7.7.1. Características de los medios en estudio

Se registraron las características de 10 preparaciones (de 4 litros cada una) suficientes para hacer los procedimientos necesarios por cada medio.

TABLA 25: Características de los medios en estudio

Medio	pH promedio	SD	CV	I
pH 1,2	1,21	0,01	1,07%	0,069
Buffer pH 4,5	4,50	0,02	0,43%	0,066
Buffer pH 6,8	6,79	0,02	0,27%	0,095
Agua	5,94	0,23	3,80%	0,000
pH 2,5/I = 0,100	2,50	0,01	0,51%	0,103
Buffer pH 7,1	7,08	0,02	0,28%	0,082
Buffer pH 7,1/I = 0,140	7,10	0,01	0,17%	0,139

7.7.2. Medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2

En la siguiente figura se representan los perfiles de disolución promedio de los tres productos en estudio en el medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2

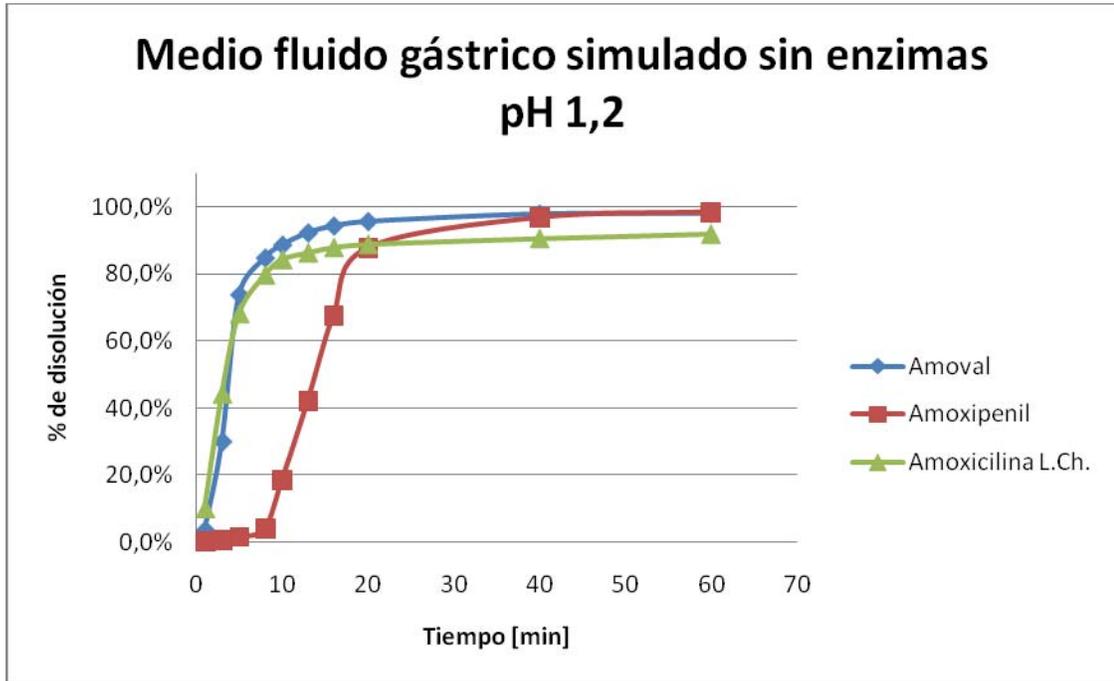


FIGURA 15: Perfil de disolución medio fluido gástrico sin enzimas pH 1,2

TABLA 26: Porcentaje de disolución en medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2

Tiempo [min]	Aموال			Amoxipenil			Amoxicilina L.Ch.		
	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV
1	3,54	0,69	19,5	0,19	0,06	34,2	9,95	1,18	11,8
3	29,92	5,06	16,9	0,54	0,08	15,1	44,21	6,59	14,9
5	73,70	4,15	5,6	1,52	0,21491	10,5	68,20	3,07	4,5
8	84,69	1,96	2,3	4,11	0,29	7,1	79,74	2,50	3,1
10	88,54	1,65	1,9	18,47	0,96	5,2	84,36	2,33	2,8
13	92,20	1,32	1,4	41,99	3,64	8,7	86,35	2,68	3,1
16	94,25	1,05	1,1	67,51	5,07	7,5	87,95	3,19	3,6
20	95,58	0,92	1,0	87,73	6,94	7,9	88,89	3,22	3,6
40	97,81	0,70	0,7	96,83	3,18	3,3	90,59	3,02	3,3
60	97,99	1,14	1,2	98,43	3,21	3,3	91,98	2,63	2,9

7.7.3. Medio buffer 4,5

En la siguiente figura se representan los perfiles de disolución promedio de los tres productos en estudio en el medio buffer 4,5:

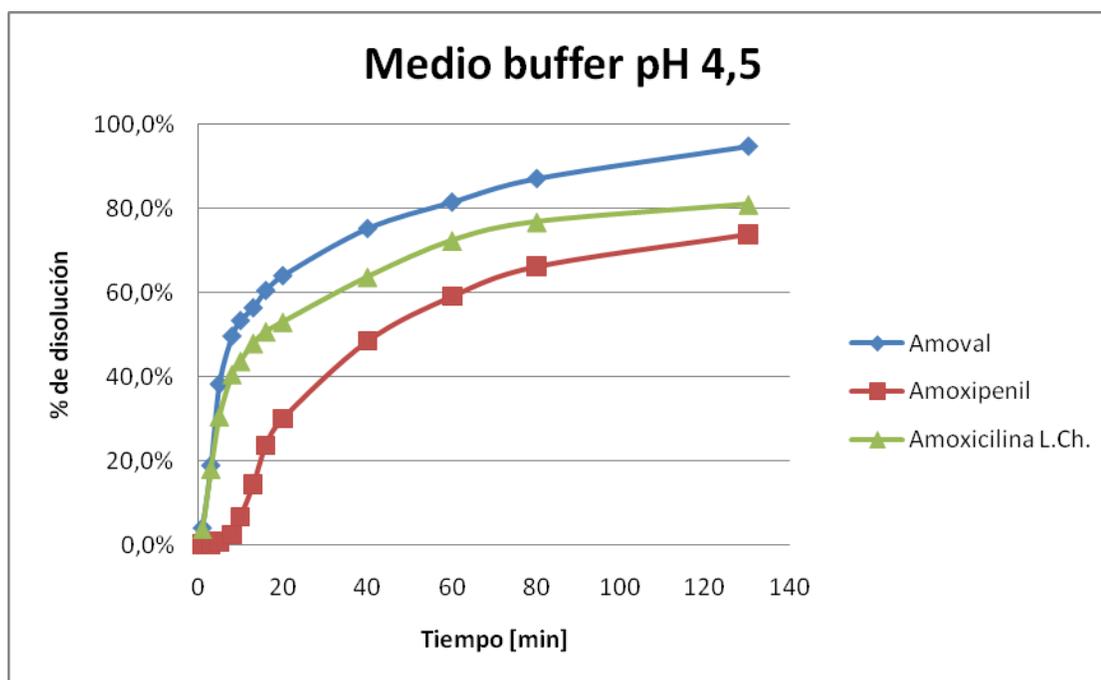


FIGURA 16: Perfil de disolución medio buffer 4,5

TABLA 27: Porcentajes de disolución en medio buffer 4,5

Tiempo [min]	Aموال			Amoxipenil			Amoxicilina L.Ch.		
	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV
1	4,08	0,65	15,89	0,15	0,02	15,62	3,77	0,62	16,41
3	18,93	3,60	19,01	0,22	0,04	16,57	18,09	2,76	15,25
5	38,23	3,56	9,31	0,77	0,05	6,86	30,61	3,05	9,98
8	49,62	4,24	8,54	2,47	0,12	4,91	40,58	4,16	10,24
10	53,31	3,95	7,42	6,76	0,62	9,11	43,71	3,63	8,31
13	56,35	3,40	6,04	14,42	1,24	8,63	48,00	3,11	6,47
16	60,46	3,56	5,89	23,78	2,26	9,48	50,74	3,00	5,91
20	63,98	3,63	5,68	30,15	2,69	8,94	53,03	2,82	5,31
40	75,17	3,32	4,42	48,52	2,12	4,36	63,71	1,86	2,92
60	81,43	4,43	5,45	59,18	2,66	4,50	72,38	1,12	1,55
80	87,03	4,65	5,34	66,28	2,45	3,69	76,82	1,26	1,65
130	94,71	5,00	5,28	73,97	2,09	2,82	80,99	1,20	1,48

7.7.4. Medio buffer 6,8

En la siguiente figura se representan los perfiles de disolución promedio de los tres productos en estudio en el medio buffer 6,8:

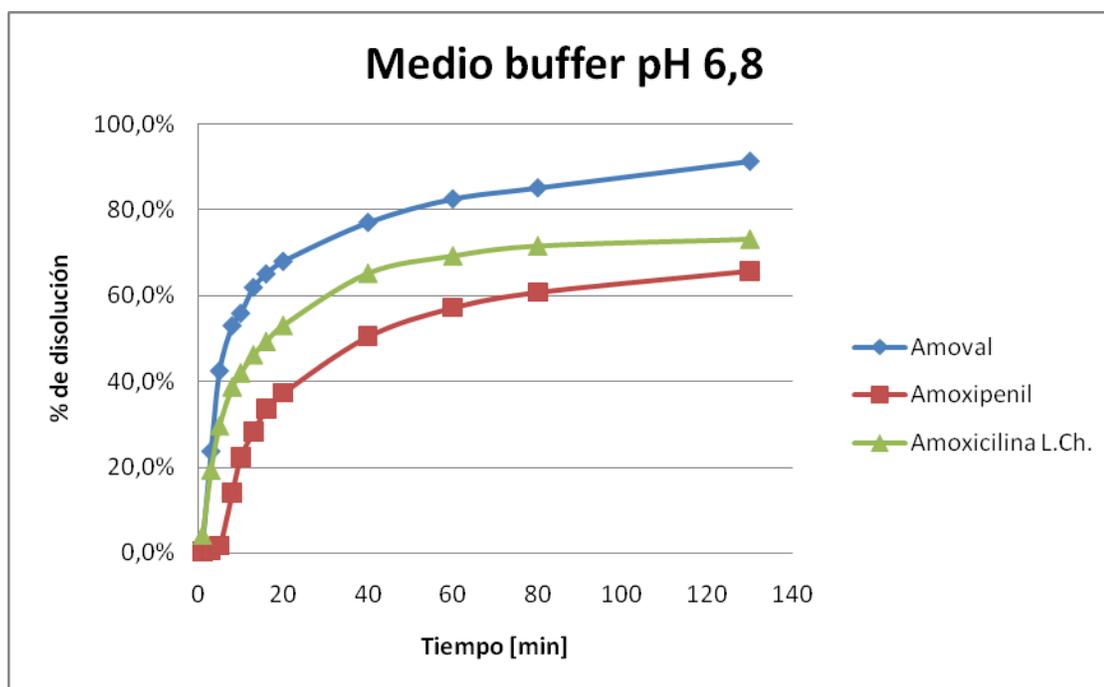


FIGURA 17: Perfil de disolución medio buffer pH 6,8

TABLA 28: Porcentajes de disolución en medio buffer pH 6,8

Tiempo [min]	Aموال			Amoxipenil			Amoxicilina L.Ch.		
	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV
1	1,99	0,35	17,70	0,16	0,02	13,72	4,13	0,67	16,17
3	23,63	4,26	18,05	0,37	0,05	14,80	19,33	2,15	11,10
5	42,39	3,92	9,26	1,57	0,14	9,15	29,65	1,40	4,72
8	52,94	3,55	6,70	13,99	0,48	3,42	38,75	2,41	6,22
10	55,83	3,46	6,19	22,32	2,18	9,77	42,02	2,41	5,73
13	61,87	3,39	5,48	28,22	2,59	9,16	46,23	1,79	3,86
16	65,02	3,22	4,94	33,52	2,36	7,04	49,33	2,08	4,21
20	67,95	2,03	2,99	37,26	2,33	6,25	53,09	2,15	4,05
40	77,03	2,89	3,76	50,41	2,18	4,33	65,28	2,32	3,55
60	82,52	2,44	2,96	57,13	2,54	4,44	69,33	1,48	2,14
80	85,10	3,27	3,85	60,74	2,98	4,90	71,65	1,32	1,84
130	91,28	3,23	3,54	65,72	2,71	4,12	73,23	1,36	1,85

7.7.5. Medio agua

En la siguiente figura se representan los perfiles de disolución promedio de los tres productos en estudio en el medio agua:

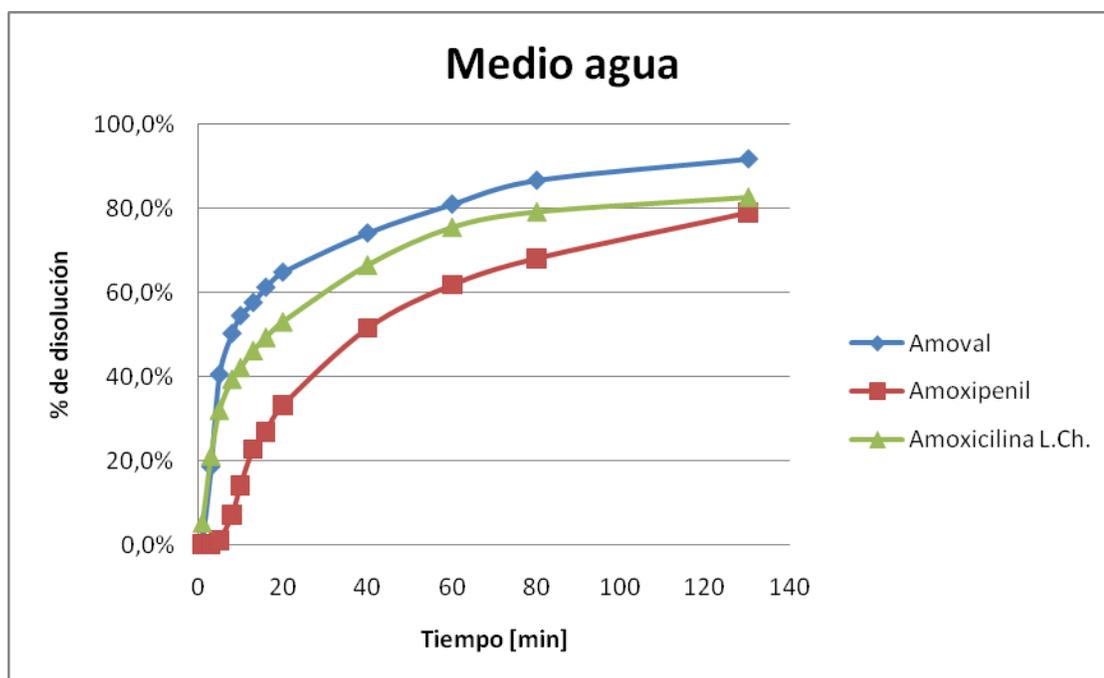


FIGURA 18: Perfil de disolución medio agua

TABLA 29: Porcentajes de disolución en medio agua

Tiempo [min]	Aموال			Amoxipenil			Amoxicilina L.Ch.		
	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV
1	0,96	0,20	20,70	0,26	0,05	20,13	5,38	0,90	16,76
3	18,60	2,96	15,93	0,33	0,07	20,07	21,17	1,65	7,77
5	40,53	3,45	8,52	1,23	0,10	8,27	32,08	3,10	9,66
8	50,31	4,73	9,40	7,26	0,57	7,91	39,42	3,54	8,97
10	54,54	5,24	9,61	14,25	1,20	8,42	42,18	3,39	8,04
13	57,68	4,63	8,03	22,88	2,02	8,84	46,20	3,60	7,79
16	61,30	5,04	8,23	26,99	2,62	9,71	49,34	3,49	7,08
20	64,89	4,60	7,09	33,22	2,99	9,01	53,04	3,33	6,27
40	74,23	3,79	5,11	51,49	4,03	7,83	66,51	2,64	3,97
60	81,08	4,23	5,21	61,79	5,11	8,27	75,44	1,92	2,54
80	86,76	4,07	4,69	68,09	4,53	6,65	79,12	2,25	2,85
130	91,86	3,63	3,95	78,95	4,00	5,07	82,58	2,11	2,55

7.7.6. Medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100

En la siguiente figura se representan los perfiles de disolución promedio de los tres productos en estudio en el medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100

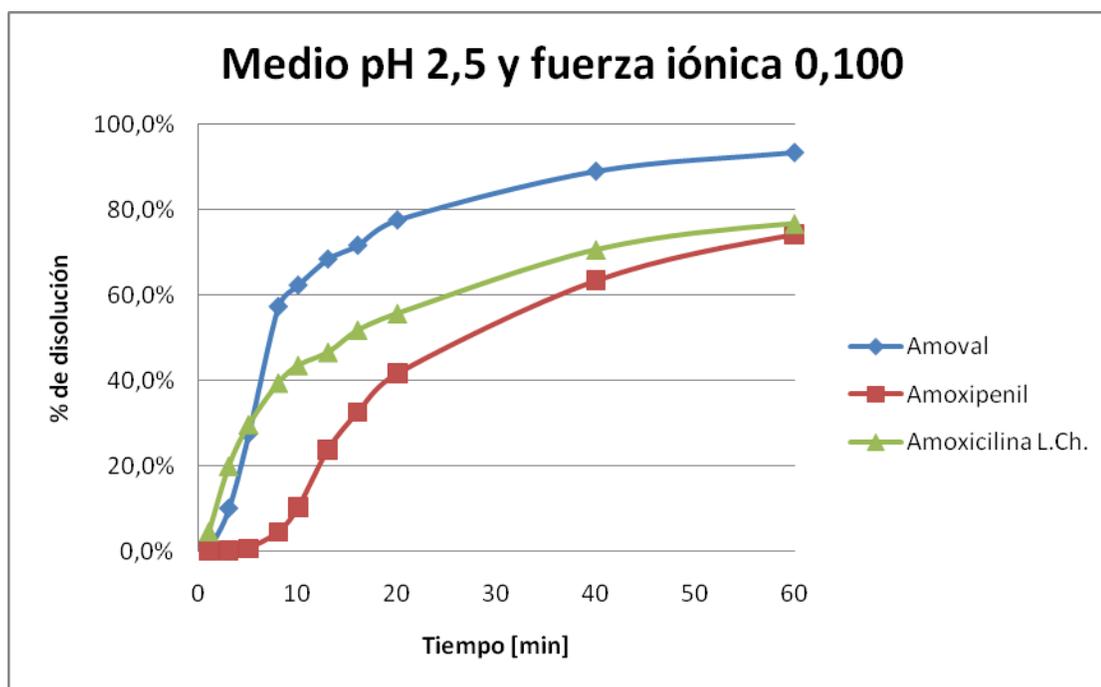


FIGURA 19: Perfil de disolución medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100

TABLA 30: Porcentajes de disolución en medio pH 2,5 y fuerza iónica 0,100

Tiempo [min]	Aموال			Amoxipenil			Amoxicilina L.Ch.		
	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV
1	0,28	0,07	26,89	0,22	0,04	15,97	4,70	0,91	19,36
3	9,95	1,47	14,82	0,34	0,07	21,11	20,06	3,16	15,73
5	27,47	2,74	9,97	0,77	0,07	8,47	29,75	2,73	9,16
8	57,23	5,48	9,58	4,58	0,34	7,47	39,53	3,14	7,94
10	62,23	5,58	8,96	10,42	0,79	7,55	43,63	3,04	6,96
13	68,35	5,10	7,47	23,90	2,11	8,85	46,72	2,70	5,77
16	71,58	5,74	8,02	32,61	2,67	8,18	51,89	2,47	4,76
20	77,51	5,24	6,76	41,70	3,83	9,18	55,80	2,62	4,70
40	88,92	3,63	4,09	63,43	3,93	6,19	70,72	2,26	3,19
60	93,29	4,94	5,29	74,24	5,87	7,90	76,81	1,87	2,43
80	97,49	3,75	3,84	80,02	5,30	6,62	78,39	2,17	2,76
130	100,97	3,26	3,22	86,50	4,53	5,24	81,38	2,20	2,70

7.7.7. Medio buffer pH 7,1

En la siguiente figura se representan los perfiles de disolución promedio de los tres productos en estudio en el medio buffer pH 7,1

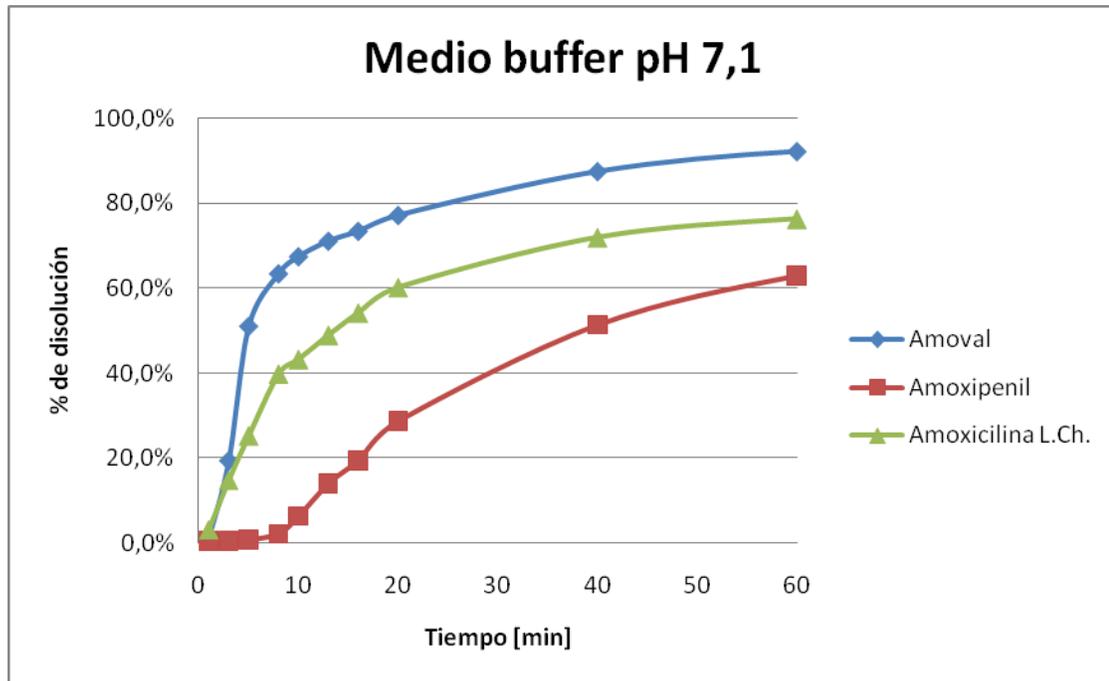


FIGURA 20: Perfil de disolución medio buffer pH 7,1

TABLA 31: Porcentajes de disolución en medio buffer pH 7,1

Tiempo [min]	Aموال			Amoxipenil			Amoxicilina L.Ch.		
	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV
1	1,08	0,20	18,74	0,45	0,06	12,67	3,34	0,51	15,16
3	19,43	2,78	14,31	0,55	0,10	18,17	14,97	2,11	14,08
5	51,09	4,67	9,13	0,72	0,06	8,81	25,42	1,14	4,48
8	63,45	4,08	6,44	2,20	0,14	6,50	39,95	3,65	9,14
10	67,48	4,21	6,24	6,32	0,36	5,68	43,38	3,69	8,52
13	71,12	2,84	3,99	14,00	1,33	9,46	49,05	2,80	5,71
16	73,45	2,52	3,43	19,48	1,77	9,10	54,30	3,26	6,00
20	77,19	2,64	3,43	28,71	2,29	7,97	60,27	3,45	5,72
40	87,51	3,04	3,47	51,35	1,57	3,06	72,03	3,12	4,33
60	92,22	2,25	2,44	62,95	2,15	3,42	76,37	2,37	3,11
80	93,15	3,53	3,79	69,53	3,48	5,01	78,07	2,26	2,90
130	96,86	3,03	3,13	81,32	3,54	4,35	80,63	2,33	2,89

7.7.8. Medio buffer pH 7,1 y fuerza iónica 0,139

En la siguiente figura se representan los perfiles de disolución promedio de los tres productos en estudio en el medio buffer pH 7,1 y fuerza iónica 0,139

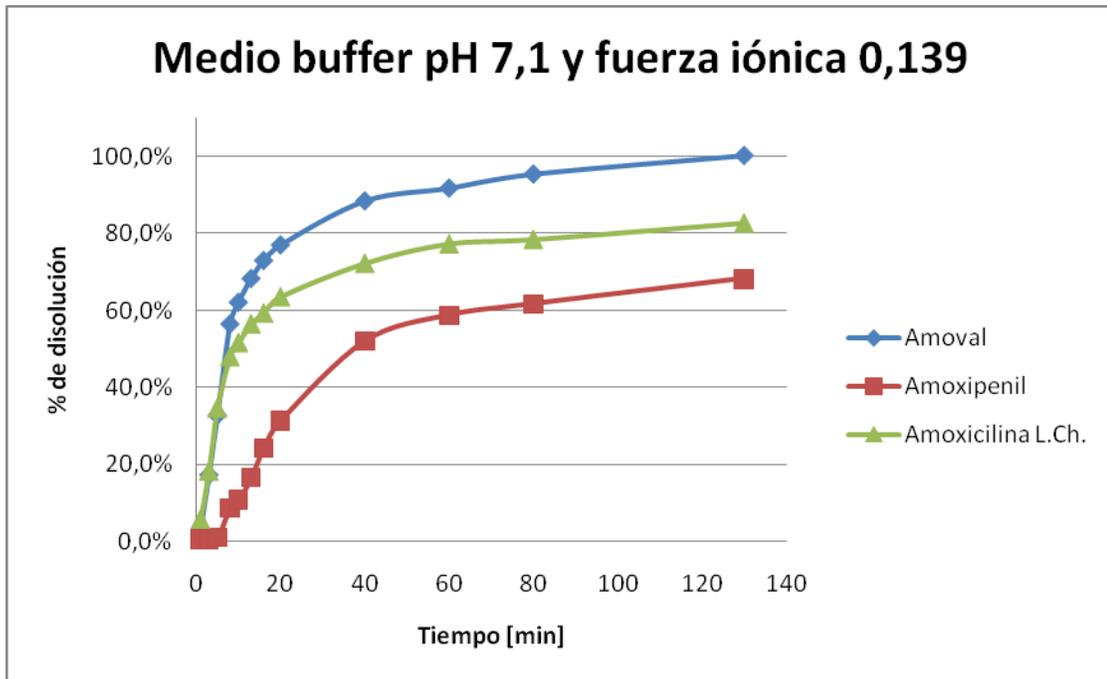


FIGURA 21: Perfil de disolución medio pH 7,1 y fuerza iónica 0,139

TABLA 32: Porcentajes de disolución en medio buffer pH 7,1 y fuerza iónica 0,139

Tiempo [min]	Amoval			Amoxipenil			Amoxicilina L.Ch.		
	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV	% prom.	SD	CV
1	3,02	0,66	21,83	0,34	0,05	13,63	5,60	1,41	25,25
3	17,21	3,50	20,33	0,41	0,09	21,44	18,19	2,50	13,76
5	32,75	3,20	9,77	0,99	0,08	8,41	34,54	1,53	4,43
8	56,48	3,78	6,68	7,35	0,44	5,98	47,93	4,33	9,04
10	62,12	4,08	6,57	11,44	0,94	8,22	51,59	4,30	8,34
13	68,32	4,15	6,08	17,09	1,56	9,11	56,44	3,16	5,60
16	73,01	3,32	4,55	24,54	2,19	8,94	59,29	3,50	5,90
20	77,05	2,04	2,65	31,90	2,52	7,88	63,51	3,58	5,64
40	88,51	3,11	3,51	52,51	1,60	3,05	72,22	3,09	4,28
60	91,84	1,10	1,19	59,01	2,00	3,40	77,28	2,37	3,07
80	95,49	4,03	4,22	63,00	3,13	4,96	78,43	2,25	2,87
130	100,34	4,01	4,00	70,68	3,05	4,32	82,67	2,36	2,86

7.7.9. Comparación de los perfiles de disolución de Amoval

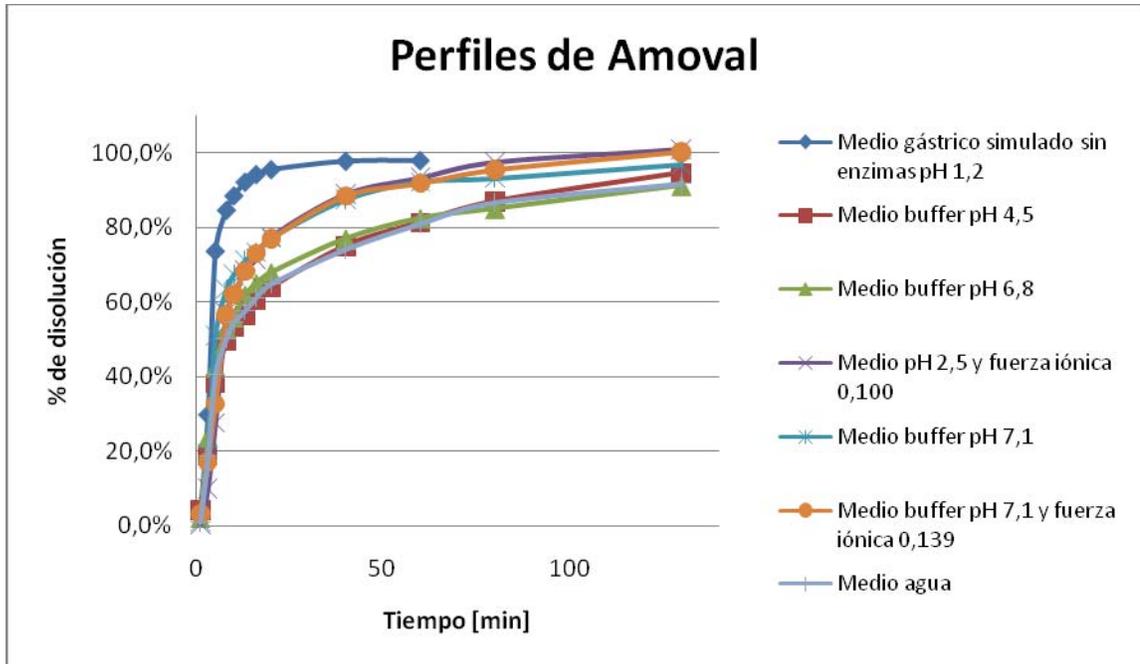


FIGURA 22: Perfiles de disolución en los distintos medios de Amoval

7.7.10. Comparación de los perfiles de disolución de Amoxipenil

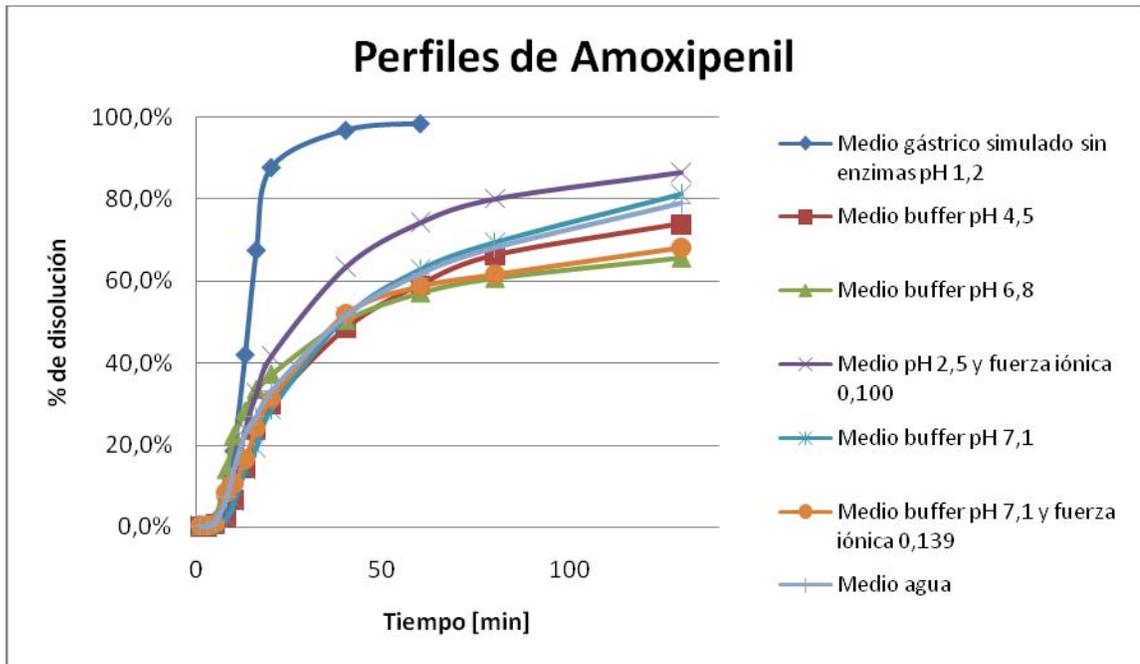


FIGURA 23: Perfiles de disolución en los distintos medios de Amoxipenil

7.7.11. Comparación de los perfiles de disolución de Amoxicilina L.Ch.

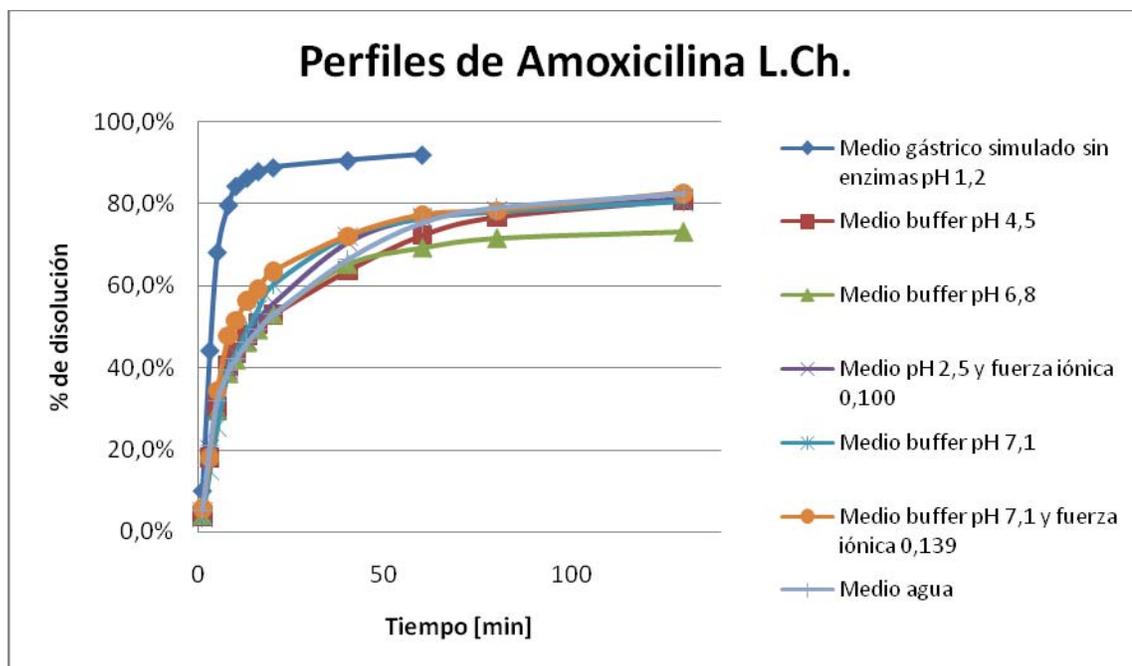


FIGURA 24: Perfiles de disolución en los distintos medios de Amoxicilina L.Ch.

7.7.12. Factor de similitud

TABLA 33: Factor de similitud (referencia Amoval)

Medio	Aموال - Amoxipenil		Aموال - Amoxicilina L.Ch.	
	f ₂	Cumple	f ₂	Cumple
Fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2	11,40	NO	54,76	SI
Buffer pH 4,5	24,01	NO	52,85	SI
Buffer pH 6,8	26,42	NO	43,82	NO
Agua	26,80	NO	51,64	SI
pH 2,5 y fuerza iónica 0,100	22,97	NO	39,11	NO
Buffer pH 7,1	16,90	NO	36,53	NO
Buffer pH 7,1 y fuerza iónica 0,139	26,04	NO	51,32	SI

8. DISCUSIONES

Amoval logró en todos los medio superar el 85% de disolución en el tiempo que duró el ensayo. A medida que se elevó el pH del medio la velocidad de la disolución fue disminuyendo, hasta el pH 6,8. Después de este punto la velocidad comenzó a subir nuevamente. Este hecho se explicaría por la solubilidad del principio activo, debido a los pKa que posee la molécula. No se observó diferencia en los dos medios pH 7,1 de diferente fuerza iónica.

El Amoxipenil resultó no ser similar al producto de referencia en ninguno de los medios, tanto oficiales como experimentales. Cabe hacer notar que en el medio ácido experimental (pH 2,5) el valor de f_2 aumentó casi al doble que en obtenido en medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2, por lo que se podría suponer que en otros productos, de darse esta diferencia, esto podría significar el cumplimiento o no de los parámetros establecidos. En los medios pH 7,1 de distintas fuerzas iónicas se observó, que al aumentar la fuerza iónica, disminuyó la disolución del producto. Según un estudio de 1978, la solubilidad de la amoxicilina es independiente de la fuerza iónica del medio, de ser así el efecto observado podría ser atribuible a la matriz. Tanto en la valoración como en la uniformidad de contenido este producto cumplió con los criterios de aceptación, no cumplió el test de disolución y en las cinéticas de disolución (salvo medio fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2) fue el producto que alcanzó menores porcentajes. De esto se puede deducir que los bajos porcentajes de principio activo obtenidos en las diversas pruebas de disolución se deberían a que la matriz no libera en forma adecuada del fármaco.

Amoxicilina L.Ch., de los dos productos en comparación resultó asemejarse más al de referencia. Cumplió tanto en medio fluido gástrico simulado sin enzimas como en el buffer 4,5, no así en el medio buffer 6,8. En los medios experimentales cumplió en agua y buffer pH 7,1 y fuerza iónica 0,139. La diferencia en los resultados de los dos medios ácidos se debería que a medida que aumenta el pH hacia pH 5 la solubilidad disminuye. Al igual que en Amoval los medios pH 7,1 no presentaron mayor diferencia entre sí.

En líneas generales, se observó que para los productos estudiados no existió diferencia significativa entre realizar las cinéticas en medio buffer 4,5 y agua. No ocurre lo mismo en los otros pHs que se encuentran en los extremos del estudio. Las diferencias encontradas se pueden explicar por la curva de solubilidad en función del pH que tiene el principio activo. Al ser una curva en forma de “U”, en la base se encuentran los pHs de los medio buffer 4,5 y agua, por lo que la diferencia de solubilidad no es importante entre ambos. En cambio en los medios ácidos, el hecho de subir el pH del medio oficial a 2,5 significó un brusco cambio en los perfiles de disolución obtenidos, en el caso de Amoxicilina L.Ch. implicó pasar de cumplir con el criterio f_2 a no cumplirlo. En el otro extremo de la curva, cerca de los pHs neutros, con un pequeño incremento en el pH del medio oficial (0,3 unidades) se observó que el porcentaje de disolución al final del ensayo fue mayor en los pHs 7,1.

En el medio pH 7,1 de menor fuerza iónica, se obtuvieron valor de f_2 menores que los encontrados para el medio buffer 6,8. En cambio en el medio experimenta 7,1 de fuerza iónica 0,139 los valores resultantes de f_2 fueron mayores, incluso esto implicó la diferencia entre no cumplir a cumplir con el criterio de aceptación en el caso de Amoval – Amoxicilina L.Ch.

Tanto pH como la fuerza iónica de los medios fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2 como en buffer pH 6,8 se encuentran bajos con respecto a los rangos que se esperaría encontrar *in vivo*, para el caso del principio activo en estudio conlleva a diferencia en los perfiles de disolución como ya se mencionó anteriormente. En el caso de otros fármacos, esto podría o no afectar sus perfiles de disolución.

El comportamiento tanto de la matriz como del principio activo varía de acuerdo a las condiciones del medio de disolución, por lo que emplear medios que no se asemejen a las condiciones fisiológicas puede llevar a resultados erróneos, tanto de aceptación o rechazo.

9. CONCLUSIONES

Todos los equipos empleados en el estudio, en el proceso de validación cumplieron satisfactoriamente con todos los parámetros establecidos para el tipo de análisis que realizaron.

Todos los productos en estudio cumplieron satisfactoriamente con los controles especificados en la USP 30, salvo amoxipenil, quien no cumplió con el test de disolución.

Ninguno de los dos productos que se compararon con el de referencia resultaron ser equivalentes terapéuticos con este. Amoxipenil no superó 50 en f_2 ni en los medios oficiales ni experimentales. Amoxicilina L.Ch. cumple en los primeros medios oficiales (fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2 y buffer 4,5), y en los medios experimentales solo cumple en el buffer 7,1 y fuerza iónica 0,139.

Los parámetros pH y fuerza iónica de los medios fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2 y buffer pH 6,8, se encuentran bajo lo esperado en fluidos *in vivo*.

Los valores resultantes de f_2 de los medios experimentales difieren de los medios oficiales, estas diferencias tanto en este estudio como en el de otros principios activos puede significar aprobar o rechazar la equivalencia terapéutica.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. CARRION Recio, Dayamí, GONZALEZ Delgado, Carlos Alberto, OLIVERA Ruano, Lourdes *et al.* Bioequivalencia: Introducción a la correlación in vivo-in vitro. Parte I. [online]. Rev Cubana Farm. 33 (2): 137-142, Mayo-ago. 1999.
2. CLARKES. Clarkes's Analysis of Drug and Poisons. London Pharmaceutical Press. Version Electronica. 2004
3. Farmacología Humana por Jesús Flórez "et al". 3° ed Masson S.A. 1997
4. ICH Steering Committee. Text of Analytical Procedures: Methodology Q2B. ICH Harmonised Tripartite Guideline. 1996.
5. ICH Steering Committee. Text on Validation of Analytical Procedures Q2A. ICH Harmonised Tripartite Guideline. 1994.
6. Instituto de Salud Pública de Chile, Departamento de Control Nacional, Subdepartamento de Seguridad, Sección de Biofarmacia. Guía Técnica G-BIOF 02: Bioexención de los estudios de Biodisponibilidad/Bioequivalencia para establecer Equivalencia Terapéutica de Formas Sólidas Orales. Santiago de Chile, 2007.
7. LIN, Jiunn, LU, Anthony. Role of Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Discovery and Development. Pharmacological Reviews. 49 (4): 403-449, Junio 1997
8. LINDAHL, Anders, UNGELL, Anna-Lena, KNUTSON, Lars, LENNERNÄS, Hans. Characterization of Fluids from the Stomach and Proximal Jejunum in Men and Woman. Pharmaceutical Research. 14 (4): 497-502. 1997.
9. PONCE D'Leon, Luisa, JARAMILLO, Adriana. Estudio de bioequivalencia *in vitro* de cuatro productos de amoxicilina del mercado colombiano. Rev. Col. Cienc. Quím. Farm. 33 (1): 70-76. 2004
10. Resolución exenta N° 727/05. Norma que define los criterios destinados a establecer equivalencia terapéutica a productos farmacéuticos en Chile. Publicada en el Diario Oficial de 29.11.05

11. Resolución exente N° 726/05. Lista de principios activos contenidos en productos farmacéuticos que deben establecer equivalencia terapéutica mediante estudios *in vivo* o *in vitro*. Publicada en el Diario Oficial de 29.11.05
12. TAUGUINAS, Alicia, BÁEZ, Margarita. Estudio comparativo de las características de liberación *in vitro* de comprimidos de Ibuprofeno. Cátedra de Química Farmacéutica y Análisis de Medicamentos – Facultad de Agroindustrias – UNNE. Argentina.
13. The United State Pharmacopeia 30 (USP 30), The National Formulary 25 (NF25), The United States Pharmacopeial Convention, EEUU, 2007.
14. TSUJI, Akira, NAKASHIMA, Emi, HAMANO, Shoichiro, YAMANA, Tsukinaka. Physicochemical Properties of Amphoteric β -Lactam Antibiotics I: Stability, Solubility, and Dissolution Behavior of Amino Penicillins as a Function of pH. Journal of Pharmaceutical Sciences. 67 (8): 1059-1066. Agosto 1978.

ABREVIATURAS

p.a.: pro análisis.

SD: desviación estándar

CV: coeficiente de variación (expresado en porcentaje)

AV: Valor de aceptación

prom.: promedio

conc.: concentración