

APLICACIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL EN LA CUANTIFICACIÓN DE METRONIDAZOL

Mario M. Maidana, Celina M. Monzón y Mario R. Delfino
Laboratorio de Química Analítica Instrumental - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste – Av. Libertad 5640
(3400) Corrientes, Argentina - mcsarno@exa.unne.edu.ar

Introducción

El metronidazol (MNZ), o 2-metil-5-nitroimidazol-1-etanol, es un fármaco ampliamente utilizado en infecciones tisulares e intestinales. Farmacológicamente, se lo clasifica como antibacteriano específico contra gérmenes anaerobios, tricomonocida, amebicida, antiprotozoario, antihelmintico y giardicida, destacando su uso en el tratamiento contra el *Helicobacter pylori*, bacteria responsable de la mayoría de úlceras y gastritis crónicas. El metronidazol está incluido en la Lista Modelo de Medicamentos Esenciales de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 4/2013). En nuestra provincia, la Planta de Medicamentos de Corrientes (PLAMECOR), lo produce en forma de comprimidos orales de 500 mg, que son distribuidos gratuitamente en Hospitales Públicos y Centros de Atención Primaria de la Salud (CAPS). Para el control de calidad de los comprimidos que lo contienen como monodroga, las distintas farmacopeas (USP, United States Pharmacopoeia; EP, European Pharmacopoeia, y la Farmacopea Argentina, entre otras) proponen en sus monografías la cuantificación de metronidazol por HPLC-UV [1-2]

El objetivo de este trabajo es presentar un método analítico alternativo optimizado para MNZ, utilizando herramientas quimiométricas. Su validación debe poner en evidencia ventajas desde el punto de vista de los costos, rapidez de análisis, calidad de los resultados y disponibilidad de equipamientos.

Materiales y Métodos

Se ensayó un método espectrofotométrico en el rango visible, basado en la reducción del metronidazol y posterior condensación con vainillina [3]. Se utilizó el diseño experimental [4] con el propósito de optimizar la técnica, a fin de hallar las condiciones de trabajo más favorables, midiendo como respuesta la absorbancia del complejo coloreado (Base de Schiff). Se evaluaron para ello distintos parámetros: temperatura de reducción (50-70 °C), tiempo de reducción (20-40 minutos) y tiempo de condensación (10-20 minutos). Se planteó un diseño factorial completo a dos niveles para seleccionar los parámetros significativos. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), tras comparar los parámetros estadístico (significancia F, falta de ajuste p y coeficiente R²), se determinaron los factores significativos del método. Posteriormente se aplicó la metodología de superficie de respuesta (RSM), mediante un diseño central compuesto, acoplado al cálculo de función deseabilidad global. Se llevó a cabo una optimización numérica de los parámetros de reducción y condensación, con los factores en su rango de valores iniciales, una respuesta máxima de 1,000 y una importancia de (++). Se corroboraron los valores obtenidos mediante tres corridas en las condiciones propuestas.

Los atributos analíticos analizados fueron: a) linealidad e intervalo lineal, utilizando soluciones estándares de concentraciones 0,00; 50; 100; 150; 200; 500 y 1000 µg/ml efectuando los ensayos por triplicado; b) especificidad, sometiendo al placebo de la formulación del comprimido de metronidazol a las condiciones del método optimizado; c) repetitividad, aplicando el método por sextuplicado a un comprimido de

metronidazol de 500 mg en las condiciones optimizadas. Se estimó la repetibilidad mediante el coeficiente de variación de Pearson (C.V).

Resultados y Conclusión

El diseño de cribado planteado, para los tres parámetros seleccionados y posterior análisis estadístico, arrojó como factores significativos del método a la temperatura de reducción y al tiempo de condensación, respondiendo a la ecuación $Abs = 1,19875 - (0,011050) \cdot T_{red} + (9,60000E -3) \cdot t_{cond}$. La optimización del método por RSM, proporcionó un modelo de tipo cuadrático.

En lo que se refiere a las características analíticas, La curva de calibración resultó ser lineal en el intervalo de concentraciones comprendidos entre 50 y 200 µg/ml. Al aplicar el método de los mínimos cuadrados a los resultados registrados se obtuvo la ecuación de la recta expresada según: $Abs = 0,007C_{MNZ} \pm 0,143$. El coeficiente de correlación lineal fue de 0,9903. Para el ensayo de repetibilidad el C.V < 2%, demostrando la buena repetibilidad del método de cuantificación. El ensayo realizado para el estudio de especificidad en la muestra placebo, comprobó que el método optimizado descrito resulta ser específico. Ninguno de los excipientes presentes en la formulación interfiere en el método de cuantificación de metronidazol.

La aplicación del método espectrofotométrico optimizado ofrece ventajas significativas en cuanto a costos, sencillez y rapidez de análisis frente a la metodología oficial. Las experiencias realizadas arrojaron resultados satisfactorios que permitirán continuar con los ensayos establecidos en los protocolos de validación de las farmacopeas, para poder ser aplicados a comprimidos genéricos de MNZ.

Bibliografía

- [1] Farmacopea Nacional Argentina, 2011. 8va edición. ANMAT.
- [2] Pharmacopoeia of the United States of America, 2012. (USP 36-NF 31).
- [3] Siddappa, K., Mallikarjun, M., et al, 2008. Eclética Química, 33(4), 41-46.
- [4] Montgomery D., 2012. Diseño y análisis de experimentos, 2da ed; Ed Limusa: México.