



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
**Ciencias e
Ingeniería**

COMPARACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD EN RATAS DE 2
FORMULACIONES DE FUROSEMIDA CON MEGLUMINA AL 4 Y 20%

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTOR(ES)

GLORIA GABRIELA SOFIA INGA PIZARRO

ASESOR(ES)

LEON FAUSTINO VILLEGAS VILCHEZ

LIMA - PERÚ

2025

Jurado calificador

Presidente: Mg. Gustavo Vladimir Bravo Orellana

Vocal: Mg. Jorge Martin Lescano Bejarano

Secretario: Dr. Ruben Eduardo Cueva Mestanza



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	INGA PIZARRO GLORIA GABRIELA SOFIA

Pertencientes al programa de la **CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**, autores del trabajo titulado: **COMPARACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD EN RATAS DE 2 FORMULACIONES DE FUROSEMIDA CON MEGLUMINA AL 4 Y 20%**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO** bajo la modalidad de **TESIS**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	VILLEGAS VILCHEZ LEON FAUSTINO	FACI	ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **17%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **3504436790**; fecha de entrega: **11/03/2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 11 de marzo de 2026**

Firma del asesor

N° DNI: 07042189

ORCID: 0000-0001-6030-2877

*Esta tesis está dedicada a mis dedicados padres, Marco y Vicky
Gracias por apoyarme en un nuevo camino.*

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	1
Abstract.....	2
I. Introducción.....	3
II. Marco teórico	3
2.1. Biodisponibilidad.....	5
2.2. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB).....	6
2.3. Métodos aplicados para mejorar la biodisponibilidad	7
2.3.1. Micronización.....	7
2.3.2. Dispersión solida	7
2.3.3. Utilización de contraiones	8
2.4. Furosemida.....	9
2.4.1. Estructura.....	9
2.4.2. Farmacodinamia y farmacocinética.....	9
2.5. Mejora de la biodisponibilidad de la furosemida	11
2.6. Meglumina	12
2.6.1. Características fisicoquímica.....	12
2.6.2. Investigaciones sobre el uso de Meglumina en fármacos.....	13
2.7. Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).....	15
2.7.1. Validación de HPLC para análisis farmacológicos	18
2.8. Técnica de ensayo <i>in vivo</i>	19
2.9. Planteamiento del problema	20
2.10. Justificación	20
III. Pregunta de investigación.....	21
IV. Objetivos.....	21
4.1. Objetivo general:	21
4.2. Objetivo específico:	21
V. Metodología de investigación	22
5.1. Materiales	22
5.1.1. Reactivos	22
5.1.2. Equipos y aparatos.....	22
5.1.3. Animales de laboratorio	22
5.2. Métodos.....	22
5.2.1. Elaboración de las formulaciones.....	22
5.2.2. Distribución del tamaño de partícula	23

5.2.3. Validación del método analítico	23
5.2.4. Evaluación farmacocinética in vivo y procedimiento para punción cardiaca y eutanasia.....	24
5.2.5. Análisis estadístico.....	25
5.2.6. Área bajo la curva	26
VI. Resultados.....	26
6.1 Linealidad	26
6.2. Exactitud	27
6.3. Estabilidad:.....	30
6.4. Distribución de tamaño de partículas.....	30
6.5. Evaluación farmacocinética in vivo.....	31
6.5.1 Parámetros $C_{máx}$ y $T_{máx}$	32
6.5.2 Área bajo la curva	33
VII. Discusión	34
X. Conclusiones	38
XI. Referencias bibliográficas	39
ANEXOS	44

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Sistema de clasificación biofarmacéutica. Adaptado de Reddy et al.

Tabla 2: Contraiones catiónicos más utilizados para la formación de sales farmacéuticas. Adaptado de Ortiz et al. (23)

Tabla 3: Formulación con meglumina al 4% y 20%.

Tabla 4: Curva de calibración tabulada a partir de las áreas de las diluciones realizadas para la prueba de precisión por HPLC/DAD.

Tabla 5: Porcentajes de recuperación de furosemida en concentraciones del 80, 100 y 120%.

Tabla 6: Concentración de furosemida a temperatura ambiente y en refrigeración, expresados como promedio \pm desviación estándar (n=2).

Tabla 7: Distribución de tamaño de partícula formulación furosemida con meglumina 4 y 20%

Tabla 8: Nivel plasmático de furosemida en $\mu\text{g/mL}$, expresado como promedio \pm desviación estándar (n=3).

Tabla 9: Concentración máxima de las tres formulaciones para un tiempo en horas.

Tabla 10: Área bajo la curva calculados a partir de las medianas de las concentraciones plasmáticas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química de la furosemida. Fuente:

<http://estebanleonardorb.blogspot.com/1997>

Figura 2: Acción de la furosemida en la nefrona. Adaptado de de la Espriella et al. (31)

Figura 3: Estructura química de Meglumina. Fuente: Aloisio et al. (20)

Figura 4: Esquema de un cromatógrafo líquido de alta eficacia. Fuente: Skoog et al. (27)

Figura 5: Tipos de cromatografía a utilizar basados en la masa molar y la polaridad del analito. Fuente: Rigo et al. (28)

Figura 6: Curva de calibración a partir de los datos tabulados.

Figura 7: Cromatograma de plasma sin diluyente.

Figura 8: Cromatograma de plasma de rata.

Figura 9: Cromatograma del estándar.

Figura 10: Cromatograma de plasma con furosemida, el plasma no afecta el pico del analito.

Figura 11: Concentración plasmática de furosemida (ug/mL) vs tiempo en horas.

Figura 12: Área bajo la curva de los tres grupos vs tiempo en horas, la mayor ABC encontrada es la de las concentraciones luego de administración de furosemida sin meglumina.

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Absorbancia de las diluciones realizadas para la curva de calibración.

Anexo 2: Área bajo la curva de las concentraciones plasmática tras la administración de las tres formulaciones de furosemida.

Anexo 3: Absorbancia de las muestras del plasma tras administración de Furosemida sin Meglumina.

Anexo 4: Absorbancia de las muestras del plasma tras administración de Furosemida con meglumina al 4%.

Anexo 5: Absorbancia de las muestras del plasma tras administración de Furosemida con meglumina al 20%.

Anexo 6: Prueba de normalidad de la distribución de datos de las concentraciones plasmáticas de ratas Sprague Dewley.

Anexo 7: Pruebas de Shapiro y Levene para las concentraciones plasmáticas de furosemida.

Anexo 8: Certificado de análisis de furosemida.

Anexo 9: Certificado de análisis de meglumina.

Resumen

Furosemida, un diurético con amplias aplicaciones clínicas como el tratamiento de edema por fallo renal e hipertensión. Es un medicamento de tipo IV, con baja solubilidad y permeabilidad, lo que resulta en una pobre biodisponibilidad. Debido a esto, se diseñaron varias técnicas de formulación para mejorar su solubilidad. Una de ellas fue la de contraiones, que consistió en añadir excipientes como Meglumina, el cual modificó el pH y funcionó como agente solubilizante. Si bien modificar la solubilidad puede comprobarse mediante ensayos in vitro, solo estudios in vivo confirmaron de manera cualitativa su efecto en la absorción y biodisponibilidad.

El objetivo de esta investigación fue comparar cualitativamente la biodisponibilidad in vivo de dos formulaciones de furosemida, una al 4 % de Meglumina y la otra al 20 %. La evaluación de la biodisponibilidad se realizó en ratas macho, que se dividieron en 4 grupos: 3 de 21 ratas y 3 para control basal. Las muestras de plasma se analizaron por HPLC-DAD, y el método fue validado mediante curva de calibración, exactitud y estabilidad.

Los resultados mostraron que el $T_{m\acute{a}x}$ fue de 0.5 horas para las tres formulaciones. Se alcanzó una concentración plasmática máxima (C_{max}) para la formulación de furosemida de 17,02 $\mu\text{g}/\text{mL}$, para el de furosemida con meglumina al 4% de 24,80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y de 25,80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para el de furosemida con meglumina al 20%. El análisis estadístico ANOVA de dos vías mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los grupos, es decir las formulaciones con meglumina tienen una mayor concentración plasmática máxima de furosemida; sin embargo, el área bajo la curva (AUC) de furosemida sola fue mayor, lo que sugiere una mayor biodisponibilidad total en comparación con las formulaciones que contenían meglumina.

Palabras claves: Biodisponibilidad, Meglumina, Furosemida, Concentraciones plasmáticas

Abstract

Furosemide is a diuretic with wide clinical applications, such as in the treatment of edema due to heart failure and hypertension. It is a class IV drug, with low solubility and permeability, which results in poor bioavailability. Therefore, various formulation techniques have been designed to improve its solubility. One such technique involves the use of counterions, including the addition of excipients such as meglumine, which modifies the pH and functions as a solubilizing agent. While its effect on solubility can be verified through in vitro tests, in vivo studies confirm its qualitative impact on absorption and bioavailability.

The objective of this study was to qualitatively compare the bioavailability in vivo of two formulations of furosemide: one with 4% meglumine and another with 20%. The bioavailability evaluation was carried out in male rats, divided into four groups: three groups of 21 rats each and a basal control group. Plasma samples were analyzed using HPLC-DAD, and the method was validated through calibration curves, accuracy, and stability.

The results showed that the T_{max} was 0.5 hours for all three formulations. The maximum plasma concentration observed (C_{max}) was 17.02 $\mu\text{g/mL}$ for plain furosemide, 24.80 $\mu\text{g/mL}$ for the formulation with 4% meglumine, and 25.80 $\mu\text{g/mL}$ for the 20% meglumine formulation. A two-way ANOVA revealed significant differences ($p < 0.05$) between the groups, indicating that the formulations with meglumine achieved higher peak plasma concentrations of furosemide; however, the area under the curve (AUC) was highest for plain furosemide, suggesting greater total bioavailability than in the groups containing meglumine.

Keywords: Bioavailability, Meglumine, Furosemide, Plasma concentrations

I. Introducción

Furosemida es un potente y efectivo diurético, impide de manera activa la reabsorción del ion cloruro en el segmento ascendente del asa de Henle, reduce la retención de ion sodio e impulsa la producción de ciertas prostaglandinas, generando un efecto vasodilatador. (1)

Posee numerosas aplicaciones clínicas, como la gestión de estados edematosos relacionados con fallos cardíacos, renales e hipertensión. Además, funciona como un adyuvante en el tratamiento de edema pulmonar agudo; también se usa en casos de enfermedades hepáticas y situaciones acompañadas por hipercalcemia y oliguria producidos por falla renal (2-4)

Su farmacocinética es variable, ya que la misma enfermedad para la cual está indicada influye en esta. En general, la absorción es rápida y los niveles pico ocurren entre los 60-90 minutos luego de la administración. Tiene una alta unión a proteína plasmática (97-98%) (3,4). Se metaboliza por glucuronidación hepática, y se elimina por filtración renal. Su vida media de es relativamente rápida (0.5- 2h); Sin embargo, la cinética de eliminación bifásica es lenta (20-30 h). En individuos sanos y para una formulación oral de 40 mg, la biodisponibilidad es de 50- 70%, la concentración máxima se alcanza entre 1-1.5 horas. Por otro lado, en pacientes esto varía de acuerdo a la enfermedad, por ejemplo, en síndrome nefrótico esta se puede reducir a 30% (3).

II. Marco teórico

Los métodos para superar la pobre solubilidad de medicamentos por vía oral presentan buenos resultados, así como limitaciones. La modificación química se puede dar por formación de sales o por prodrogas. El principio de la formación de sales es convertir los compuestos insolubles en sales solubles estables, aunque mejora la solubilidad y disolución efectivamente y que también es una técnica muy empleada, requiere grupos ionizables, además debe ser ionizable a pH fisiológico. La técnica de prodrogas consiste en administrar una forma química inactiva, que será activado posteriormente por el metabolismo. La gran limitante es diseñar la nueva especie química con una estructura viable (1).

Una modificación física se produce por polimorfismo sólido estable o por reducción del tamaño de partícula. El primero emplea el principio activo en estado amorfo, ya que tiene la energía interna más alta que otros polimorfos lo que la hace más reactiva lo que al mismo tiempo mejora su solubilidad, disolución y biodisponibilidad(2). La desventaja es que tiene un tiempo de vida corta por su alta reactividad, la exposición a solventes o humedad puede revertirlo a su estado cristalino (3). Además, es posible incrementar la solubilidad del fármaco al disminuir el tamaño de las partículas, lo que incrementa la superficie, lo que potencia la solubilidad y disolución, tal como se demuestra con la ecuación de Noyes-Whitney. Para conseguir la reducción del tamaño de partícula se debe someter a estrés mecánico que puede degradar el medicamento (4).

$$dc/dt=kS(C_s-C) \quad \text{Ecuación Noyes-Whitney}$$

Donde:

k= constantes

C= concentración en un tiempo "t"

C_s= es la solubilidad de saturación

S= área superficial

Otras técnicas es coadministrar con excipientes solubles, por ejemplo, los surfactantes. La desventaja es que puede precipitar luego de la dilución o que los excipientes resulten ser tóxicos (5). Se pueden formar complejos con ciclodextrina, estas encapsulan medicamentos en una cavidad hidrofóbica, pero posee una superficie hidrofílica, la técnica se ve limitada por el tamaño del poro y también por su nefrotoxicidad con una repetida administración (6). Otra forma de encapsular medicamentos hidrofóbicos es con nanopartículas poliméricas, estas al ser de naturaleza anfipática, ayuda a suspender el principio activo en medios acuosos, el diseño del fármaco debe ser específico para cada especie química, lo que significa una desventaja en el uso de la técnica (7)

La formulación con Meglumina se basa en la técnica de contraiones. Los contraiones son moléculas que mantienen la neutralidad eléctrica de una especie iónica. La Meglumina se encuentra dentro del grupo de iones farmacéuticos al igual que el sodio, cloruro, potasio, lisina, maleato, entre otros. Según el manual de excipientes farmacéuticos, la Meglumina deriva del sorbitol, es orgánica; se utiliza como solubilizante y regulador de

pH. Sus propiedades químicas son pH de 10.5, $pK_a = 9.5$, punto de fusión 128-132°C y una solubilidad acuosa de 1 en 1 a 20°C. Se ha demostrado que a los ácidos débiles los estabiliza e incrementa la tasa de liberación de fármacos. Es ampliamente utilizada como excipiente en formas farmacéuticas no parenterales, además la FDA aprobó su uso como excipiente para formas farmacéuticas sólidas (cápsulas y comprimidos) y líquidas (inyectables por vía intravenosa e intramuscular) (8–11). La Meglumina ha sido estudiada para incrementar la solubilidad de otros fármacos. Investigaciones de Zhu et al. (2014), evaluaron diferentes concentraciones de Meglumina para incrementar la solubilidad de repaglinida, evidenciándose que una proporción 1:2 (repaglinida: Meglumina) obtuvo mejores resultados. La Meglumina disuelta en etanol (50% v/v), mostro un efecto beneficioso en la tasa de liberación del ingrediente activo, siendo idóneo como excipiente para la fabricación de tabletas (12). En el 2017, Yamashita et. al, desarrollaron formulaciones de telmisartán, siendo la variable el pH, demostrando que la saturación excesiva de telmisartán entre un pH 5 - pH 6.8 incrementó de manera notable la disolución (11).

La mejora de los parámetros farmacocinéticos mejora la biodisponibilidad y la eficacia de la dosis administrada, así como su toxicidad mejorando el cumplimiento del paciente al tratamiento (14).

2.1. Biodisponibilidad

La biodisponibilidad fue definida en 1995 por Amidon et al., como la velocidad y cantidad de un fármaco que al ser absorbido a una dosis determinada se hace disponible en el lugar de acción (15). Al presentar complicaciones al momento de evaluar la relación entre la velocidad y la absorción con la disponibilidad del fármaco, la Asociación de Farmacéuticos Americanos (APhA) reinterpreto este concepto como la rapidez y cantidad a la que, de acuerdo con la forma de dosificación establecida, el principio activo absorbido llega a la circulación sistémica. (16). Al poder cuantificar la concentración del fármaco tomando una muestra de sangre u orina se puede precisar la adherencia del principio activo en la circulación sistémica, No obstante, este elemento también está sujeto a las características fisicoquímicas y farmacocinéticas, a la dosificación y al sustrato biológico al que se dirige el medicamento.

2.2. Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB)

El SCB clasifica los principios activos en cuatro clases basados en su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal; factores determinantes en la velocidad y la absorción del fármaco (Tabla 1). Este sistema facilita el conocimiento de las características del principio activo y orienta a las investigaciones para la optimización del desarrollo de las formulaciones.

Un medicamento muestra una alta solubilidad cuando la dosis más elevada se puede disolver en menos de 250 ml de medio acuoso a un pH de 1-7.5. En cambio, una sustancia se considera altamente permeable cuando la absorción registrada en investigaciones de permeabilidad in vivo supera el 90% de la dosis que se administra.

Aquellos que se encuentran en la clase I tienen solubilidad alta en agua y se absorben más fácilmente por la mucosa gastrointestinal, por ende, su biodisponibilidad es prácticamente del 100% (sin degradación gastrointestinal o metabolismo presistémico). En la clase II se encuentran los fármacos que sí son absorbidos con facilidad pero que no son solubles, esto asociado a las características lipofílicas de la molécula. Los fármacos que son muy solubles, pero con permeabilidad baja, por no poder atravesar las barreras lipídicas, se encuentran en la clase III y, los principios activos que se encuentran en la clase IV son aquellos que representan un mayor desafío al momento de desarrollar formas farmacéuticas dado a su solubilidad y permeabilidad baja.

Tabla 1: Sistema de clasificación biofarmacéutica. Adaptado de Reddy et al(17).

Clase	Solubilidad	Permeabilidad	Ejemplos
I	Alta	Alta	Ácido acetilsalicílico
			Alopurinol
			Amoxicilina
			Acido ascórbico
			Fluconazol
			Propanolol
II	Baja	Alta	Ibuprofeno
			Rifampicina
			Nevirapina
			Verapamilo

III	Alta	Baja	Abacavir
			Aciclovir
			Cloxacilina
			Metildopa
			Metoclopramida
IV	Baja	Baja	Furosemida
			Albendazol
			Ritonavir
			Mebendazol

2.3. Métodos aplicados para mejorar la biodisponibilidad

2.3.1. Micronización

La nanosuspensión o micronización se basa en la descomposición de un fármaco al destruir sus enlaces internos lo que lleva a la modificación de sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, incrementando así la velocidad de disolución y su solubilidad. Este proceso se logra empleando molinos micronizadores que reducen el tamaño de las partículas de hasta 0,5-10 μm (18). No obstante, al utilizar una corriente expansora en la cámara de micronización, las partículas presentan alta carga eléctrica lo que provoca que se aglomeren con más facilidad, además, al triturarse el principio activo puede degradarse debido al estrés físico(19).

2.3.2. Dispersión solida

Este método permite dispersar ingredientes farmacéuticos activos (API), ya sea como moléculas separadas, partículas amorfas o cristalinas, en un carrier o portador solido (en estado amorfo o cristalino) utilizando sistemas de fusión y evaporación del disolvente (20). Este método permite disminuir la dimensión de las partículas hasta niveles moleculares, lo que incrementaría la superficie y la rapidez de disolución del medicamento. Por otro lado, los polímeros utilizados en este método en su mayoría absorben humedad provocando una reversión de un estado amorfo a cristalino del fármaco. Además, esta reversión puede incrementarse con el aumento de la temperatura facilitando el movimiento molecular y la recristalización (21).

2.3.3. Utilización de contraiones

Un contraión se refiere a una especie iónica que actúa como acompañante de otra para garantizar el equilibrio eléctrico. Estos contraiones se dividen en dos categorías: cationes y aniones. Según lo descrito por Paulekuhn et al., se han identificado diferentes tipos de contraiones catiónicos. (22) Se encuentra el sodio, potasio, zinc, calcio, Meglumina, entre otros. Pueden funcionar como reguladores del pH y acelerar la disolución de los principios activos, desempeñando así el papel de agentes solubilizantes.

La salificación es una manera de utilizar contraiones para transformar los fármacos. Las sales pueden formarse debido al carácter ácido o base débil de los grupos funcionales de los principios activos, lo cual les permite ser ionizados. Este método puede utilizarse cuando los fármacos presentan baja solubilidad en medio acuoso, problemas de cristalización o inestabilidad química.

Tabla 2: Contraiones catiónicos más utilizados para la formación de sales farmacéuticas. Adaptado de Ortiz et al. (23)

Tipo	Catión
Catión metálico	Potasio
	Sodio
	Magnesio
	Calcio
	Zinc
Aminoácido catiónico	Arginina
	Lisina
	Histidina
Amina orgánica	Trietilamina
	Etanolamina
	Trietanolamina
	N-metil-D-glucamina (Meglumina)
	Etilendiamina
	Trometamina
Colina	

2.4. Furosemida

2.4.1. Estructura

La furosemida es conocida químicamente como el ácido 5-(Aminosulfonil)-4-cloro-2- [(2-furanilmetil) amino] benzoico (23). Presenta un grupo ácido carboxílico, sulfonamida y amina, estos actúan como donadores de electrones formando enlaces puente de hidrógeno. (24)

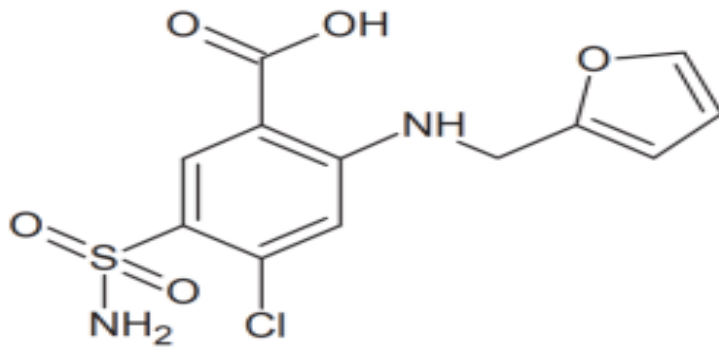


Figura 1: Estructura química de la furosemida. Fuente: <http://estebanleonardorb.blogspot.com/1997>

2.4.2. Farmacodinamia y farmacocinética

La furosemida es un medicamento empleado para tratar el edema asociado a enfermedades del riñón, hígado o corazón. Este fármaco funciona como un diurético, bloqueando el cotransportador de $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$, que se encuentra en la membrana luminal de la rama ascendente del asa de Henle. Su acción impide la reabsorción activa de sodio y cloro, lo que incrementa la eliminación de sodio y agua a través de la orina, al tiempo que optimiza el intercambio de potasio en el sistema renina-angiotensina. (25) Modelos animales demuestran que la furosemida reduce la filtración glomerular inducida por la renina y prostaglandina, aumentado el flujo sanguíneo renal lo que mejora la cantidad de oxígeno intrarrenal (Ilustración 2). Por otro lado, la enzima prostaglandina deshidrogenasa es inhibida por la furosemida, disminuyendo la resistencia vascular renal y aumentando el flujo renal sanguíneo, lo que a la par también aumentaría la capacitancia vascular y disminuiría la presión para el llenado del ventrículo

izquierdo, útil en pacientes que sufren de enfermedad arterial periférica (26).

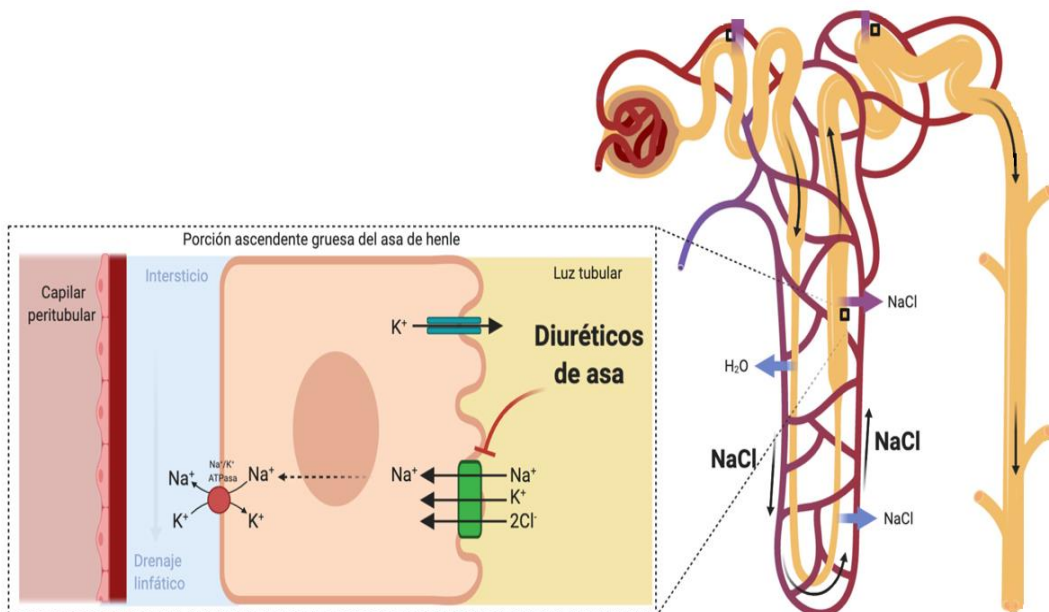


Figura 2: Acción de la furosemida en la nefrona. Adaptado de de la Espriella et al. (31)

Al administrarse de forma oral, el 60% -70% de la dosis es absorbida a nivel del tracto gastrointestinal. La furosemida interactúa con las proteínas del plasma, y las concentraciones en el plasma pueden variar entre 1 y 400 ug/ml, incrementándose en función de la dosis administrada. A nivel del hígado no se observa un alto metabolismo, por el contrario, su excreción por vía renal es del 88% mediante la filtración glomerular y la secreción tubular activa, ocurriendo a las 24 horas después de su administración en forma del metabolito glucurónico (10% - 20%) o como fármaco sin modificación (80%-90%). La vida media en pacientes con insuficiencia renal y hepática puede variar entre las 11 y 20 horas (27).

El componente activo es un ácido de baja densidad con un pKa de 3.48. Al presentar enlaces puente de hidrogeno, anillos de furano y falta de potencial de hidratación, este diurético posee baja solubilidad y depende del pH, debido a la ionización del carboxilo. Valores de 2.3-10 de pH pueden modificar la solubilidad acuosa desde un 0.18 – 13.36 mg/ml (28).

2.5. Mejora de la biodisponibilidad de la furosemida

Al ser la furosemida un fármaco utilizado para tratar varios problemas médicos como la hipertensión arterial y cardiopatías, se han realizado múltiples investigaciones para mejorar su biodisponibilidad.

Goud et al. (25) elaboraron cocrisales equimolares de furosemida con la finalidad de obtener una mayor solubilidad y estabilidad. Realizaron trituración asistida por líquido con urea, cafeína, ácido aminobenzoico, acetamida, nicotinamida, adenina, citosina e isonicotinamida, luego caracterizaron los productos por diferentes métodos como la calorimetría de barrido diferencial o la difracción de rayos x. Los cocrisales con mayor solubilidad fueron la furosemida-citosina, furosemida-adenina y la furosemida-cafeína con valores aproximadamente de 11,7, 6 veces mayores respectivamente que la furosemida normal y, la velocidad de disolución fue dos veces mayor que el fármaco puro.

Abraham (29) desarrolló estrategias para mejorar las propiedades biofarmacéuticas como la solubilidad, permeabilidad, disolución y estabilidad de la furosemida. Utilizó aminoácidos, etanolaminas y oligosacáridos. Observó un incremento de 112 veces para la furosemida al obtener un sistema soluble con arginina. Luego, evaluó la formación de sólidos a partir de dichos sistemas solubles utilizando métodos como la molienda o la liofilización. El producto obtenido se caracterizó utilizando técnicas como la resonancia magnética nuclear en estado sólido o la difracción de rayos X. Sales farmacéuticas binarias formadas con furosemida se logró al utilizar trietanolamina o arginina y, la disolución y la fotoestabilidad de la furosemida tuvo mayores resultados con la sal farmacéutica de estequiometría 1:2 con arginina logrando estabilidad de casi el triple del tiempo que es fármaco libre.

Gutiérrez et al. (30) determinaron la influencia del poloxámero 407, excipiente farmacéutico que actúa como agente solubilizante, en el fármaco furosemida. Para conseguirlo, empleó el procedimiento de granulación por fusión. Se elaboraron gránulos de furosemida y poloxámero 407, así como mezclas físicas a tres concentraciones (1:0,5, 1:1 y 1:2), caracterizándolas luego por medio de la metodología indicada en la USP 42-NF 37. La concentración que obtuvo mayor resultado en la velocidad de disolución de la

furosemida fue el de 1:2, donde se alcanzó hasta un 100% de disolución del fármaco para gránulos y 95.45% para mezclas físicas a diferencia de la furosemida que consiguió un 72.62%. Por otro lado, en las pruebas estadísticas se mostró diferencias significativas al compararla con la furosemida ($p < 0.05$).

Coty et al. (31) evaluaron el potencial del Spray Flash Evaporation (SFE) para nanocrystalizar la furosemida con el fin de reducir el tamaño de las partículas y aumentar la velocidad de disolución. El tamaño del polvo de furosemida y su morfología se estudió utilizando microscopia electrónica de barrido y el perfil de disolución se evaluó antes y después de la submicronización mediante el sistema de flujo a través de células (USP 4). La disposición cristalina del polvo de furosemida después de SFE mostró una forma polimorfa que no modificó el nanocrystal. Mediante espectroscopia infrarroja el patrón fue idéntico entre la furosemida antes y después del proceso de SFE, lo que confirmó que la integridad química de la furosemida no fue alterada y, en el estudio de la velocidad de disolución, la furosemida cristalizada tuvo una mejora en la velocidad de 4.5 veces más que la furosemida normal.

2.6. Meglumina

2.6.1. Características fisicoquímica

Denominado también N-metilglucamina, es un polihidroxi-amina y contraión catiónico utilizado como agente solubilizante y como modificador de pH. Presenta un pKa de 9.5 a 20° C, una solubilidad de 1 a 1 a 20°C, punto de fusión de 128-132° C y pH de 10.5 en solución acuosa al 1% (p/v)(31). Debido a que no es tóxico y puede mejorar la solubilidad de varios fármacos su uso es aceptado para diferentes formas de presentación de los medicamentos como capsulas, comprimidos o inyectables (32). La solubilidad lograda al formar complejos con los principios activos se debe a la atracción electrostática de los aminos cargados positivamente por parte de Meglumina y al oxígeno carbonilo rico en electrones en los fármacos(33).

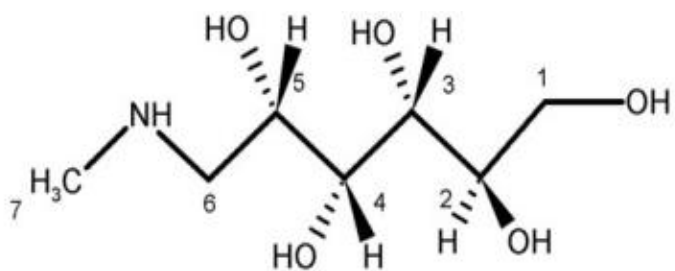


Figura 3: Estructura química de Meglumina. Fuente: Aloisio et al. (20)

2.6.2. Investigaciones sobre el uso de Meglumina en fármacos

Yamashita et al. (11) estudiaron el proceso de disolución y precipitación de telmisartán, un fármaco de baja solubilidad en la región de pH neutro, aplicando Meglumina como modificador de pH. Utilizaron gránulos del fármaco mezclado con Meglumina al 18% y 33% y lo disolvieron en tampón a valores diferentes de pH. El fármaco se diluyó en un 90% para ambos gránulos mientras que el telmisartán en polvo solo se diluyó en un 0.5%. En la evaluación por difracción de rayos x en polvo, el pico de difracción pronunciada desapareció a $8^{\circ}2\theta$ en la solución a 6.8 pH, lo que indicó una baja cristalización. Esto permitió concluir que la Meglumina proporciona una alta solubilidad al telmisartán dependiendo del pH.

Haiying et al. (34) utilizaron Meglumina para mejorar la solubilidad y biodisponibilidad de la glimepirida utilizando la técnica de hidrotopia. El complejo glimepirida-Meglumina se distinguió tanto por la espectroscopía infrarroja como por la difracción de rayos x en polvo, evidenciando la creación de enlaces puente de hidrogeno en el mismo. La solubilidad de la glimepirida se incrementó hasta 24.000 veces en una relación de peso de 1:10 (glimepirida: Meglumina) y, en la evaluación de la disolución in vitro, el medicamento se disolvió en un 95% tras dos horas, en contraste con la glimepirida en su estado purificado que se disolvió en 12 horas.

Zhu et al. (33) desarrollaron un método para mejorar la disolución del fármaco repaglinida en base a la adición de Meglumina en etanol al 50%. La disolución se realizó a diferentes valores de pH y la concentración del fármaco se midió utilizando cromatografía de alta resolución. Los resultados mostraron una mayor solubilidad al aumentar la concentración de Meglumina. También, se observó un aumento significativo en la disolución en relación molar repaglinida y Meglumina de 1:2 (n/n). En

la difracción de rayos x no se evidencio picos en la solución del fármaco con Meglumina, lo que permitió inferir la formación de complejos entre estos. Con ello, se concluyó que la Meglumina podría ser utilizada para mejorar la solubilidad de este fármaco en especial en la presentación de tabletas.

Tabletas de desintegración oral: Con la ayuda de Meglumina como excipiente alcalinizador, se mejoró la disolución de telmisartán en un 80% durante los primeros 5 minutos. Para ello, se compararon las disoluciones de dos dispersiones sólidas binarias, que contenían como excipiente, además del fármaco, un polímero hidrofílico en una se adicionó un tercer componente (Meglumina). Además de emplear diferentes ratios de Meglumina para encontrar la mejor concentración, se realizaron diversas pruebas para caracterizar las micropartículas de cada dispersión sólida. Como conclusión secundaria, se evaluaron diferentes matrices para tabletas de desintegración oral, todas resultaron compatibles con las dispersiones sólidas siendo Pharmaburst®500 la más óptima.

Meglumina flunixinina (MF): es un AINE de uso veterinario, limitado por la irritación del tracto respiratorio. Se desarrolló una dispersión sólida de MF de desintegración oral mediante compresión directa con Eudragit® como matriz junto con otros excipientes. El perfil de disolución in vitro mostró MF en dispersión sólida liberó de forma más lenta que una mezcla física. Las formulaciones con Eudragit® mejoraron notablemente el sabor de las tabletas, luego del estudio farmacocinético resultó que los principales parámetros no diferían significativamente de los gránulos comerciales, lo que ayuda a inferir que tendrá un comportamiento similar en uso veterinario (41).

Co-molienda de Meglumina y nateglinida: La disolución de nateglinida mejoró con una formulación con Meglumina mediante un proceso de co-molienda; además de esto, se evaluó el efecto hipoglucémico en ratas diabéticas. Se prepararon tres formulaciones con diferentes ratios molares de fármaco-Meglumina (1:1, 1:2 y 1:3). Se usaron técnicas de espectroscopía infrarrojo de Fourier, análisis térmico diferencial y difracción de rayos X. La formulación con mejor perfil de disolución fue usada para la evaluar el efecto terapéutico, teniendo como control nateglinida sólida. Los cambios en la prueba de espectroscopía infrarroja demostraron la formación de un enlace amida entre nateglinida y Meglumina, esto fue confirmado por las otras pruebas mencionadas, esta nueva especie presentaba por lejos una mejor disolución a una mayor concentración de

Meglumina. Esta disolución se expresó también en las pruebas in vivo de hipoglicemia(36).

Tabletas de Repaglinida y Meglumina: La dilución 50% de Repaglinida en una solución de Meglumina en 50 % v/v en etanol, adicionado a un *binder* mejoró el perfil de disolución del fármaco. Se emplearon las mismas pruebas usadas por Alaa Y. et all. para la caracterización del fármaco, el cual confirmó la formación de un complejo molecular. El experimento de disolución se llevó a cabo en varios niveles de pH, y el estudio de la concentración de repaglinida se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC en inglés). Se descubrió una correlación directa entre la concentración de Meglumina y la disolución del medicamento (10).

Composiciones ternarias amorfas de celecoxib y Meglumina: Se elaboraron composiciones ternarias de celecoxib, un estabilizador (Polyvinilpirrolidona o PVP) y Meglumina. La formulación con el ratio 7:2:1 w/w. mejoró la solubilidad de celecoxib 10,2 veces que la forma cristalina de celecoxib; también mantuvo la estabilidad termodinámica del fármaco en forma amorfa. Sin embargo, Meglumina por sí solo fue incapaz de impedir la cristalización de la forma amorfa de celecoxib. Se demostró un efecto sinérgico entre PVP y Meglumina para mejorar la disolución de celecoxib; se sugiere una posible interacción a nivel molecular de PVP y Meglumina, pero pruebas de caracterización no fueron realizadas (37).

2.7. Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

Tipo de cromatografía en columna que permite separar, identificar y cuantificar diferentes especies químicas encontradas en una mezcla de solución. Esta técnica es indicada para la separación de compuestos orgánicos semivolátiles y fijos (38).

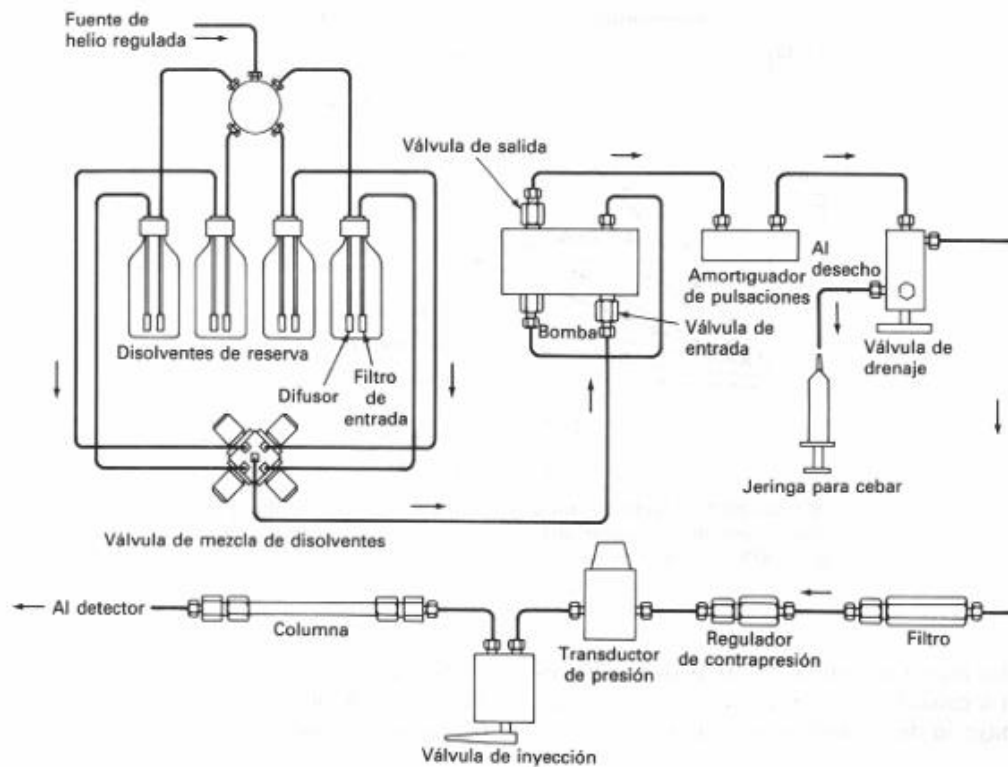


Figura 4: Esquema de un cromatógrafo líquido de alta eficacia. Fuente: Skoog et al. (27)

El equipo está conformado por un disolvente (fase móvil) y por un sólido que interviene en la separación de los compuestos activos (fase estacionaria). Presenta un reservorio, el cual contiene la fase móvil (líquido o fluido), unido a una tubería que a su vez se une a una bomba encargada de transportar el disolvente siguiendo un flujo de presión. También posee inyectores que introducen la muestra a analizar en el sistema. Cuando la muestra es colocada en los inyectores, viaja junto al disolvente hacia la columna donde se encuentra la fase estacionaria, una vez allí los analitos son separados debido a la interacción de la fase móvil con la fase estacionaria. Dicha interacción es traducida como una señal e identificada por un detector que muestra los tiempos de retención y el área de las moléculas analizadas dependiendo de la concentración y del tipo del compuesto (Ilustración 4). Estos detectores deben tener un rango amplio de respuesta,

tener una respuesta lineal y una sensibilidad adecuada (39).

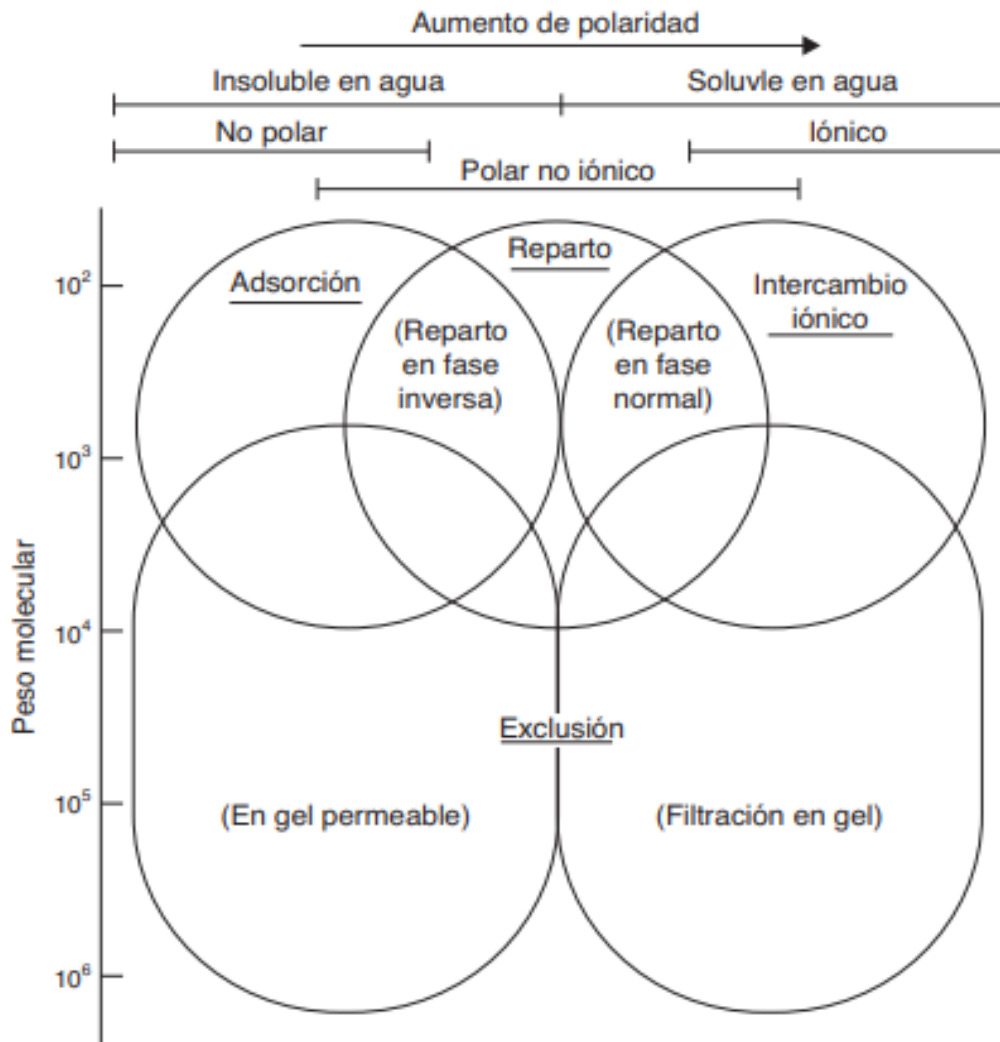


Figura 5: Tipos de cromatografía a utilizar basados en la masa molar y la polaridad del analito. Fuente: Rigo et al. (28)

Para utilizar correctamente el equipo cromatográfico se requiere el equilibrio entre las fuerzas moleculares del analito, la fase móvil y la fase estacionaria. Considerando las interacciones entre estos tres componentes se debe seleccionar el tipo de cromatografía a utilizar(40). Por ejemplo, para evaluar analitos con masa molar elevada, como las enzimas o proteínas, es recomendable utilizar la cromatografía de exclusión molecular o para analizar iones inorgánicos, como nitratos o nitritos, la cromatografía de intercambio iónico es una buena opción (Ilustración 5).

2.7.1. Validación de HPLC para análisis farmacológicos

El uso de medicamentos es esencial para la cura o el control de enfermedades, por ende, evaluar su concentración y efectos en el organismo es de suma importancia. Los métodos existentes para esta evaluación por lo general son largos y costosos, pero al utilizar el HPLC se podría lograr este objetivo de una manera simple y económica, debido a ello, se están realizando investigaciones para validar el uso de HPLC como un método analítico para la detección de múltiples fármacos.

Por ejemplo, Huaynasi et al. (41) detectaron y cuantificaron fenitoína junto con inhibidores de glicoproteína-P (elacridar y tariquidar) obtenidos del plasma de ratas mediante el uso de HPLC-DAD. Como fase móvil se utilizaron acetonitrilo. Hicieron diluciones seriadas en plasma de rata para tener estándares de calibración y soluciones control. Para corroborar la utilización de HPLC-DAD, se fundamentaron en el estudio de selectividad, linealidad, precisión, exactitud, recuperación y estabilidad de la Guía de Validación de Métodos Bioanalíticos de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). Al evaluar la selectividad no encontraron picos que hayan dificultado la determinación de los analitos. En el análisis de linealidad observaron una relación entre el área y la concentración de los analitos con un nivel de confianza del 95%. Obtuvieron coeficientes de variación del 15% y valores de exactitud entre 85%-115% lo que coincidió con lo establecido por la FDA y permitió indicar la precisión y exactitud del instrumento. El porcentaje de recuperación superior de fenitoína, elacridar y tariquidar fue del 97%, 96% y 94% respectivamente, cumpliendo lo establecido y demostrando la eficiencia del método de extracción. Con estos resultados concluyeron que el HPLC puede ser utilizado para análisis farmacológicos de biodisponibilidad y monitorización de los compuestos activos.

Por lo visto anteriormente, emplear un procedimiento cromatográfico está determinado por la validación de los requisitos específicos para su utilización. Estas exigencias podrían fundamentarse en normativas de entidades científicas como la Federación Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), el Instituto para la Normalización de Laboratorios Clínicos (CLSI), la Agencia Europea del Medicamento (EMA) o la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA); o también puede basarse

criterios propios del laboratorio donde se realiza el procedimiento (42).

La guía EUROCHEM (2023) establece que “la extensión de la validación debe adaptarse al propósito del análisis” y que “una validación parcial puede ser aceptable cuando el método no se utiliza con fines regulatorios sino exploratorios o investigativos”. (46) El estudio de Mannam y Yallamalli (2018) empleó solo selectividad, linealidad, precisión y exactitud en un análisis de furosemida en plasma de conejos; igualmente el artículo titulado “Validación de método para determinación de furosemida en plasma y orina” incluyó los parámetros clásicos como linealidad, precisión, recuperación, límites de detección y cuantificación y especificidad, pero fue desarrollado bajo un enfoque más clínico y normativo, diferente al de la presente investigación (47)

En consecuencia, se considera que una validación parcial es suficiente cuando el estudio no busca aprobar un método con fines clínicos o regulatorios, sino garantizar una evaluación comparativa fiable en un modelo animal.

2.8. Técnica de ensayo *in vivo*

Se entiende por ensayo *in vivo* aquel que se lleva a cabo dentro de un organismo vivo como animales de laboratorio. Al tener identificadas las posibles variables que provocan un fenómeno específico se realiza el experimento *in vivo* controlado para obtener resultados sin distorsiones. Si estos resultados se asemejan a los del fenómeno natural, la investigación cambiaría a un modelo *in vitro*, con ello, la información resultante permitiría poder manipular o controlar el fenómeno natural observado (43).

Generalmente los modelos animales en un ensayo *in vivo* suelen ser ratas o ratones debido a su alta disponibilidad, su fácil manipulación y el conocimiento extenso disponible sobre ellos. Sin embargo, existen ensayos con especies no convencionales como conejos, gallinas e inclusive conejillos de indias (cuyes), todos estos con una justificación científica para su uso. El número y edad de los animales a utilizar en una prueba científica dependerán de la rigurosidad del efecto de la prueba, de la sensibilidad esperada, de las concentraciones a suministrar y de la potencia estadística deseada en la evaluación. Se debe considerar también el sexo de los individuos, pues en investigaciones previas ha tenido efecto. (44).

2.9. Planteamiento del problema

La furosemida, un diurético ampliamente utilizado para el tratamiento de edema asociado a insuficiencia renal e hipertensión; sin embargo, presenta limitaciones relacionadas con su baja solubilidad, lo que puede comprometer su absorción y efectividad terapéutica. Diversas estrategias de formulación han sido exploradas para superar este desafío, destacando el uso de meglumina como agente solubilizante. Sin embargo, aunque estudios previos han señalado el potencial del meglumina para mejorar la solubilidad de compuestos poco solubles, aún existe una falta de evidencia científica sólida que evalúe su impacto en la biodisponibilidad in vivo de la furosemida.

En este contexto, surge la necesidad de comparar la biodisponibilidad in vivo de dos formulaciones de furosemida que emplean meglumina en concentraciones al 4% y al 20%. Esta evaluación permitirá determinar si las modificaciones en la formulación afectan significativamente la absorción del compuesto, proporcionando una base científica para decisiones clínicas y el desarrollo de formulaciones farmacéuticas más efectivas.

El principal desafío de este estudio reside en la falta de información comparativa que confirme la efectividad de estas formulaciones en cuanto a biodisponibilidad in vivo. Resolver esta incógnita es crucial para optimizar el uso del meglumina como estrategia de formulación y, en última instancia, mejorar el tratamiento de condiciones médicas graves como la hipertensión y el fallo renal.

2.10. Justificación

El uso de la Meglumina como agente solubilizante se ha propuesto como una estrategia para mejorar la solubilidad de la furosemida. Sin embargo, es crucial realizar una evaluación cualitativa de la biodisponibilidad in vivo para determinar si esta técnica de formulación realmente mejora la absorción del compuesto.

La razón detrás de esta investigación radica en la necesidad de ofrecer sólidas pruebas científicas acerca de la efectividad de la formulación de furosemida con Meglumina para orientar decisiones clínicas y optimizar el tratamiento de pacientes con edema debido a

fallo renal e hipertensión. Al evaluar la biodisponibilidad *in vivo* de estas formulaciones, este estudio contribuirá a mejorar la comprensión de su efectividad terapéutica y proporcionará información relevante para el desarrollo de futuras estrategias de formulación de fármacos.

III. Pregunta de investigación

¿Existe una diferencia significativa en la biodisponibilidad *in vivo* de la furosemida al comparar dos formulaciones con distinta concentración de meglumina (4 % y 20 %) con una formulación sin meglumina en un modelo animal de ratas macho Sprague-Dewley?

IV. Objetivos

4.1. Objetivo general:

Determinar si existe una diferencia significativa al comparar la biodisponibilidad de dos formulaciones de furosemida con meglumina (4 % y 20 %) con una formulación de furosemida sin meglumina en un modelo animal de ratas macho.

4.2. Objetivo específico:

- Determinar los valores de Tmax y Cmax luego de administrar por vía oral furosemida 20 mg sin meglumina, en un grupo de ratas macho Sprague-Dewley.
- Determinar los valores de Tmax y Cmax luego de administrar por vía oral de una suspensión de furosemida 20 mg con meglumina al 4% en un grupo de ratas macho Sprague-Dewley.
- Determinar los valores de Tmax y Cmax luego de administrar por vía oral una suspensión de furosemida 20 mg con meglumina al 20% en un grupo de ratas macho Sprague-Dewley.
- Comparar los valores de Tmax y Cmax de la curva de biodisponibilidad de furosemida sin meglumina y de dos formulaciones de furosemida con Meglumina al 4 % y al 20%.

V. Metodología de investigación

5.1. Materiales

5.1.1. Reactivos

Furosemida (Suleshvari pharma, India), Meglumina (Merck, Alemania), fosfato de potasio monobásico (Merck, Alemania), hidróxido sodico (Macron, EEUU), celulosa microcristalina tipo 101 (Merck, Alemania), croscarmelosa sódica (JRS Pharma, EE.UU.), povidona K-30 (ISP EEUU) y lactosa monohidrato (DMV, Inglaterra).

5.1.2. Equipos y aparatos

HPLC-DAD (Agilent. USA), Baño María, Termohigrometro, Jaulas de animales, Balanza de precisión y analítica.

5.1.3. Animales de laboratorio

Se usaron ratas machos de dos meses, cepa Sprague-Dawley (n=66), con un peso corporal de 200g - 240 g, provenientes del animalario de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Los animales estuvieron en un ambiente con un ciclo luz y oscuridad de 12:12 horas, con temperatura de 22 °C y humedad relativa (HR) de 70 %. Se emplearon jaulas de polipropileno, ubicando tres ratas por jaula para garantizar su bienestar y facilitar el manejo previo al experimento. Durante su estancia, tuvieron acceso libre a agua y alimento balanceado en pellets para roedores, elaborado en la Universidad Nacional Agraria de la Molina. Esta investigación fue aprobada por el Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales (CIEA) de la UPCH, en el marco del proyecto identificado con SIDISI 203758, autorizado el 24 de febrero de 2019.

5.2. Métodos

5.2.1. Elaboración de las formulaciones

Se pesaron los ingredientes en balanza analítica siguiendo la proporción de la tabla 3 suficiente para 20 gramos. En otro vaso de precipitado se mezclaron por 5 minutos en espiral de adentro hacia afuera, luego se agregó el agua pura, como aglutinante, mediante goteo constante sin dejar de mezclar. Luego se secó en una estufa durante 3 horas a 65°C.

Tabla 3: Formulación con meglumina al 4% y 20%.

	Formulación 1 (meglumina 4%)	Formulación 2 (meglumina 20%)
Meglumina	4	20
Furosemida	20	20
Celulosa microcristalina	18	14
Lactosa monohidratada	53	41
Croscarmelosa Sódica	2	2
Povidona K-30	3	3

5.2.2. Distribución del tamaño de partícula

La distribución del tamaño de partícula en las formulaciones de furosemida con meglumina, fue determinada utilizando el método de análisis por tamizado. Este procedimiento implica pasar la muestra a través de varios tamices con aberturas de malla decrecientes, separando las partículas según su tamaño. Las fracciones retenidas en cada tamiz se pesan para calcular el porcentaje de material correspondiente a cada rango de tamaño. Este método es el más utilizado, debido a su rapidez y eficacia en la caracterización granulométrica de materiales en diversas industrias, incluyendo la farmacéutica. (45)

5.2.3. Validación del método analítico

Se optó por realizar una validación parcial del método analítico, enfocándose en los parámetros esenciales para garantizar resultados confiables y suficientes para los fines comparativos del estudio: linealidad, exactitud (recuperación) y estabilidad; con el propósito de determinar los límites de detección y cuantificación, evaluándose además el porcentaje de recuperación y estabilidad de la furosemida en el plasma.

5.2.3.1. Linealidad

Se utilizó el método de extrapolación lineal hasta una concentración cero, representando la curva de calibración con niveles de furosemida de 0.50, 1.25, 2.50, 3.75, 5.00 y 6.25 µg/mL.

5.2.3.2. Exactitud

El análisis se realizó por triplicado en tres concentraciones porcentuales (%) de furosemida en plasma al 80, 100 y 120. La recuperación fue evaluada comparando las áreas de respuesta de los estándares con las obtenidas a partir de concentraciones equivalentes de furosemida en el plasma de ratas.

5.2.3.3. Estabilidad

Se evaluó la estabilidad, analizando las muestras tanto en el momento de su preparación como después de 24 horas, periodo en el que fueron almacenadas en refrigeración a una temperatura de entre 5 °C y 8 °C.

5.2.4. Evaluación farmacocinética in vivo y procedimiento para punción cardíaca y eutanasia.

El tamaño de muestra se realizó tomando como referencia a lo publicado por Hasan Ali et al. (2017), para el estudio los animales fueron divididos en sub grupos de 3 animales cada uno a los que se les tomó las muestras de sangre a las 0.5, 1, 2, 4, 6, 12 y 24 horas. (23)

Para evaluar la biodisponibilidad, se utilizaron 66 ratas, distribuidas en cuatro grupos: tres grupos de 21 animales cada uno y un grupo control de tres destinado como basal. El primer grupo de animales se subdividió en siete subgrupos, cada uno conformado por tres ratas, a las cuales se les administró furosemida 40 mg/kg por vía oral utilizando una cánula de administración oral. Treinta minutos después, se procedió a la extracción de muestras sanguíneas mediante punción cardíaca en los animales del primer subgrupo. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 5000 r.p.m., y el plasma obtenido se almacenó en ependorf de propileno a -20 °C hasta su análisis. Se les aplicó la eutanasia a los animales inmediatamente después de finalizada la toma de muestra, se les administró pentobarbital sódico (100-150 mg kg⁻¹). Para los otros subgrupos se realizó el mismo procedimiento de extracción a las 2, 4, 6, 12 y 24 horas respectivamente.

En el caso del segundo y tercer grupo, cada uno compuesto por 21 animales, se administró por vía oral una suspensión de furosemida en meglumina al 4 % y 20 %, respectivamente, a una dosis de 40 mg/kg. El procedimiento de recolección de muestras fue idéntico al utilizado en el primer grupo.

Durante el estudio, todos los animales tuvieron acceso libre al agua. La concentración de furosemida en ambos grupos fue determinada mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Cada muestra y estándar fueron analizados individualmente en el HPLC, utilizando volúmenes de inyección de 20 µL. Se utilizó una columna C18- 5 µm de 4.6 mm x 150 mm (Zorbax Extend), con un flujo de 1 mL/min y una detección a 254 nm. Los cromatogramas fueron registrados y se midieron las respuestas de los picos correspondientes, calculándose luego la cantidad de furosemida presente en cada muestra.

Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente antes de ser diluidas con acetonitrilo en una proporción de 1:2. Posteriormente, fueron centrifugadas a 5000 r.p.m. y filtradas en viales ámbar de 1 mL para su análisis por HPLC. Se cuantificó la furosemida en la muestra, utilizando la ecuación siguiente:

$$Furosemida (\mu g/mL) = (Am / Ae) \times (PE / 25)(3/25)(Pot E)(1000)(2)$$

Donde:

Am: Área de muestra

Ae: área de estándar

PE: Peso de estándar

Pot E: Potencia de estándar

Parámetros farmacocinéticos, como el área bajo la curva (AUC), la concentración máxima (C_{max}) y el tiempo máximo (T_{max}), fueron calculados utilizando los datos obtenidos de las curvas construidas para todos los animales.

Al finalizar el estudio los animales fueron eliminados de acuerdo a los procedimientos del laboratorio del Servicio de Control de Calidad.

5.2.5. Análisis estadístico

Los parámetros de C_{max} observada y el T_{max} necesario para alcanzar esta concentración se obtuvieron directamente de las curvas de concentración de la muestra en ratas.

La media y la desviación estándar de las concentraciones y los tiempos máximos fue calculado. Además, se realizó la prueba de ANNOVA de dos vías para comparar los datos de los grupos experimentales. Se empleó R para el análisis estadístico.

5.2.6. Área bajo la curva

Para comparar la biodisponibilidad de dos formulaciones de furosemida con meglumina al 4% y 20% en ratas, se calculó el AUC de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo utilizando el método del trapecio. Este método es una técnica de integración numérica que permite estimar el AUC dividiendo el perfil de concentración-tiempo en segmentos trapezoidales y sumando las áreas de cada segmento. La fórmula aplicada para cada intervalo $[t_i, t_{i+1}]$ es:

$$AUC_i = (C_i + C_{i+1}) / 2 \times (t_{i+1} - t_i)$$

donde C_i y C_{i+1} son las concentraciones plasmáticas en los tiempos t_i y t_{i+1} , respectivamente. La suma de estos segmentos proporciona una estimación del AUC total, que es fundamental para evaluar la biodisponibilidad de las formulaciones estudiadas.

VI. Resultados

6.1 Linealidad

En la investigación se evaluaron seis niveles de concentración teóricos: 0,4 $\mu\text{g/mL}$, 0,8 $\mu\text{g/mL}$, 1,6 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$ y 10 $\mu\text{g/mL}$. Con estos datos, se generó la curva de calibración, presentada en la tabla 4 y la figura 6. Para la furosemida, la ecuación derivada de la curva fue $y = 218,61x - 12,848$, con un coeficiente de correlación (r) de 0,9996 y un coeficiente de determinación (r^2) de 0,9996. Esto indica que cumple con los criterios de aceptación para la linealidad del método analítico, que exige un coeficiente de correlación superior a 0,98 y un coeficiente de determinación mayor a 0,99. (48)

Tabla 4: Curva de calibración tabulada a partir de las áreas de las diluciones realizadas para la prueba de precisión por HPLC/DAD.

Concentración µg/mL	Área 1	Área 2	Área 3	Promedio
0,4	135,81883	123,96185	63,68098	107,82055
0,8	195,02077	175,63148	213,10999	194,58741
1,6	167,20073	414,78311	419,74301	333,90895
4	918,98724	895,27106	881,0473	898,43520
8	1760,43811	1816,0769	1767,40723	1781,30741
10	2192,33569	2163,71729	2191,77197	2182,60832

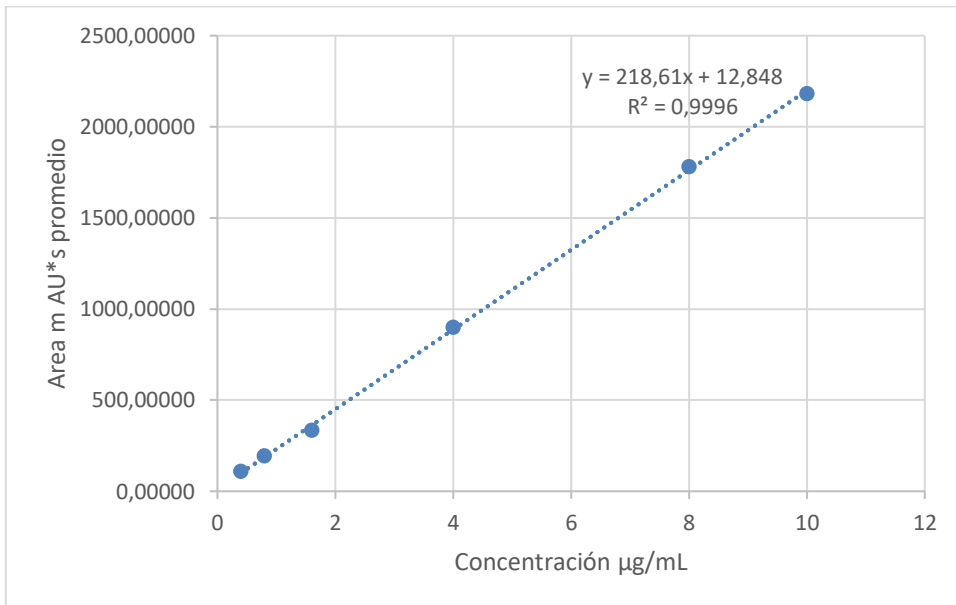


Figura 6: Curva de calibración a partir de los datos tabulados.

6.2. Exactitud

Con muestras de Furosemida a tres concentraciones diferentes: 1,44 µg (pico 120%); 1,2 µg (pico 100 %) y 0,96 µg (pico 80%) en 1 mL de plasma sanguíneo de rata se realizaron dos lecturas diferentes por cada muestra y se calculó el promedio con cada pico, los cuales fueron 171,68 para pico 120%; 124,03 para pico 100%; y 115,54 para pico 80%. En la tabla 5 se presentan los valores correspondientes a los porcentajes de recuperación de furosemida.

Tabla 5: Porcentajes de recuperación de furosemida en concentraciones del 80, 100 y 120%.

Niveles de concentración (%)	Porcentaje de recuperación (Promedio \pm DS)
80	97,86 \pm 0,45
100	84,76 \pm 0,30
120	100.91 \pm 1,72

La prueba de exactitud muestra un pico a 9.448 nm en la muestra de plasma de rata luego de una administrarle unas dosis de furosemida (figura 10), este pico coincide con el de la muestra del estándar de furosemida (figura 9), además este pico está ausente en la muestra plasmática de una rata a la que no se le administró furosemida (figura 8). Así mismo, se resalta que ningún componente del diluyente interfiere con la lectura del plasma (figura 7).

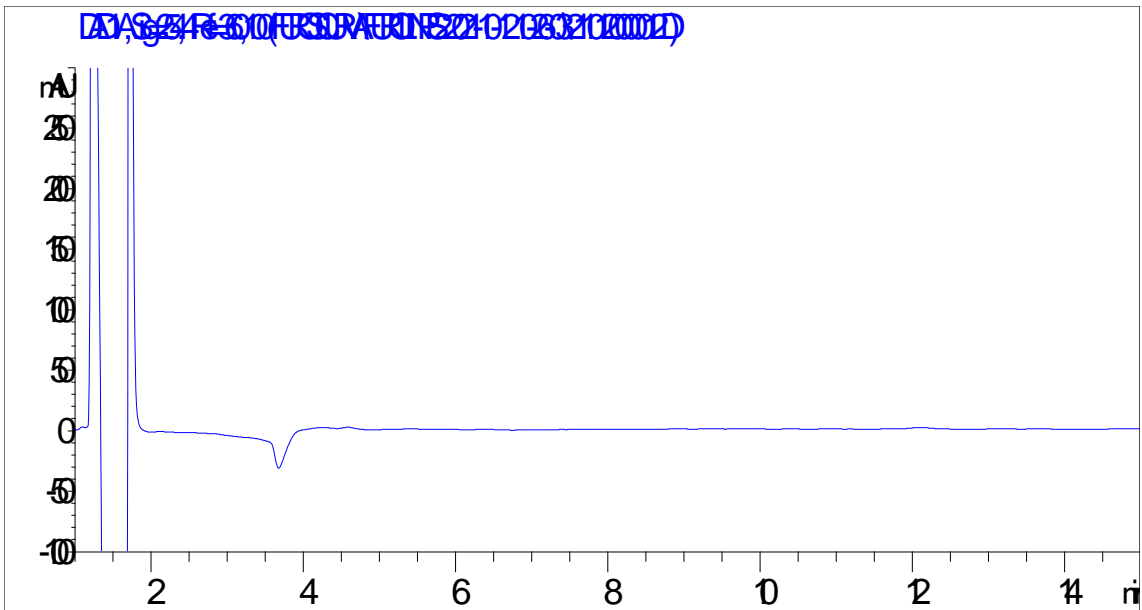


Figura 7: Cromatograma de plasma sin diluyente.

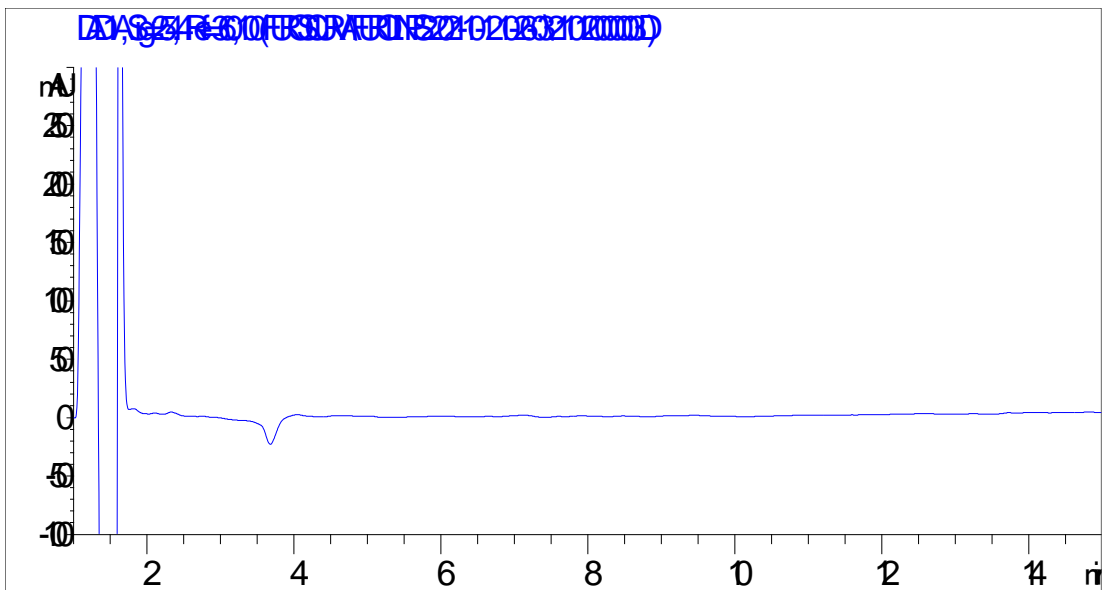


Figura 8: Cromatograma de plasma de rata.

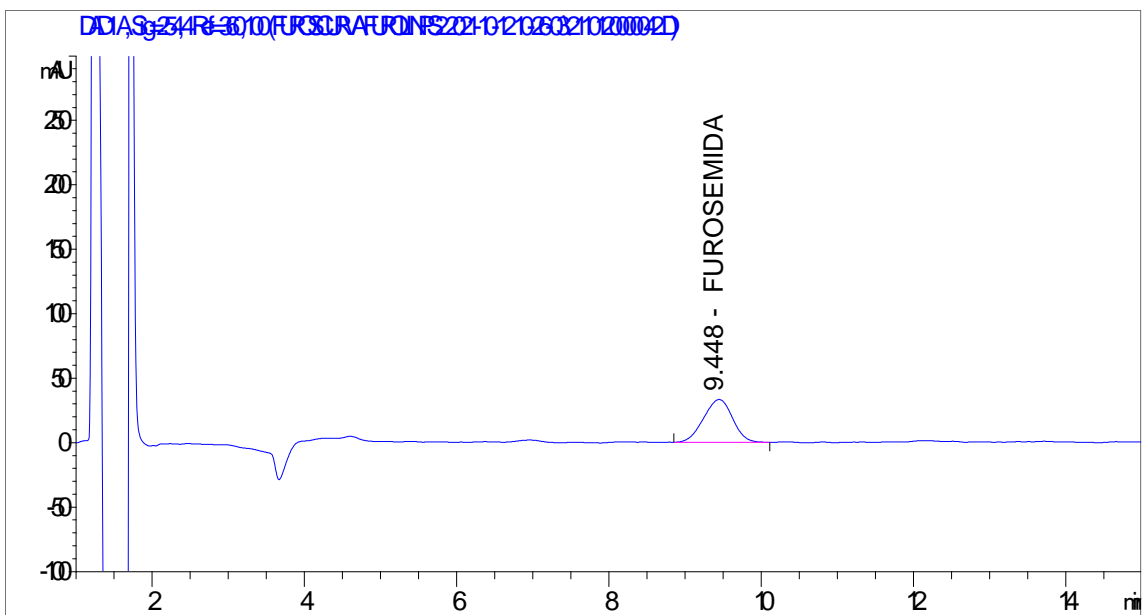


Figura 9: Cromatograma del estándar.

filtrado registrados fueron 18,22% y 36,11%, para cada formulación respectivamente.

Tabla 7: Distribución de tamaño de partícula formulación furosemida con meglumina 4 y 20%

Tamaño de malla	% filtrado de furosemida + meglumina 4%	% filtrado de furosemida + meglumina 20%
30	69,09	62,79
40	12,69	1,09
60	18,22	36,11

6.5. Evaluación farmacocinética in vivo

A través de pruebas in vivo se determinó la concentración plasmática de furosemida ($\mu\text{g}/\text{mL}$) en ratas, tanto para los granulados de furosemida con meglumina como para la furosemida sola. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 8, a partir de los cuales se elaboró la figura 11.

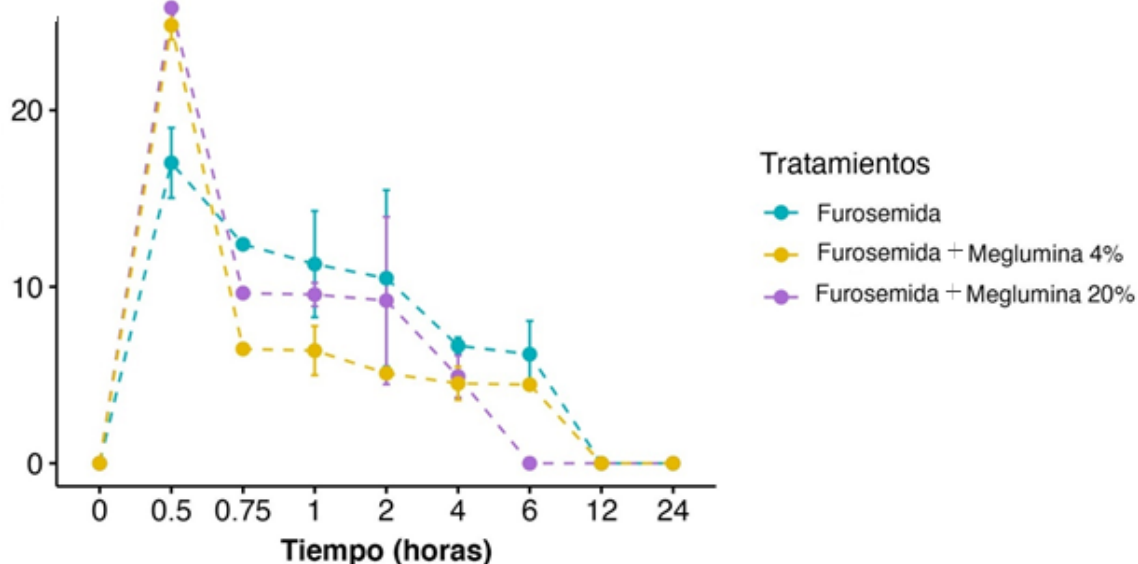


Figura 11: Concentración plasmática de furosemida (ug/mL) vs tiempo en horas.

El análisis de la concentración plasmática de furosemida en ratas Sprague-Dawley, mediante la prueba ANOVA de dos vías, mostró diferencias estadísticamente

significativas a los 30 minutos ($p < 0.05$) posteriores a la administración de las formulaciones. Estos resultados sugieren que la concentración de furosemida en plasma fue mayor en los animales que recibieron la combinación con meglumina a los 30 minutos. Se identificó una concentración plasmática más elevada en los grupos tratados con furosemida junto con meglumina al 20 % y al 4 %.

Por otro lado, los animales que recibieron las formulaciones sin meglumina mostraron las concentraciones plasmáticas más altas hasta las seis horas. En contraste, en las muestras obtenidas tras la administración de furosemida con meglumina al 20 %, no se detectaron concentraciones a las seis horas. Esta diferencia resultó estadísticamente significativa ($p < 0.05$), como se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8: Nivel plasmático de furosemida en $\mu\text{g}/\text{mL}$, expresado como promedio \pm desviación estándar (n=3).

Concentración plasmática (Media \pm Desviación Estándar, n=3)

Tiempo (horas)	Tratamientos			p-value
	Furosemida $\mu\text{g}/\text{mL}$	Furosemida + Meglumina 4% $\mu\text{g}/\text{mL}$	Furosemida + Meglumina 20% $\mu\text{g}/\text{mL}$	
0.00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	-
0.50	17.02 \pm 1.99 ^a	24.8 \pm 0.81 ^b	25.8 \pm 0.21 ^b	$p < 0.05$
1.00	11.28 \pm 3.01 ^a	6.38 \pm 1.39 ^a	9.56 \pm 0.66 ^a	$p = 0.06$
2.00	10.48 \pm 4.99 ^a	5.1 \pm 0.26 ^a	9.22 \pm 4.74 ^a	$p = 0.30$
4.00	6.66 \pm 0.47 ^a	4.52 \pm 0.94 ^a	4.91 \pm 1.19 ^a	$p = 0.06$
6.00	6.18 \pm 1.88 ^a	4.46 \pm 0.09 ^c	0 \pm 0 ^b	$p < 0.05$
12.00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	-
24.00	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	-

*letras distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$).

6.5.1 Parámetros $C_{\text{máx}}$ y $T_{\text{máx}}$

Con respecto a la tabla 9, se observa que con un $T_{\text{máx}}$ de 0.5 horas se alcanzó una concentración plasmática máxima observada (C_{max}) en furosemida con Meglumina al 4% con un valor de 24,88 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y furosemida con Meglumina al 20% con un valor de 25,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Tabla 9: Concentración máxima de las tres formulaciones para un tiempo en horas.

Parámetros farmacocinéticos	Furosemida	MEG4%	MEG20%
C máx (ug mL-1)	17.02±1.99	24.88±0.81	25.8±0.21
Tmáx(horas)	0,5	0,5	0,5

6.5.2 Área bajo la curva

En cuanto al área bajo la curva para la furosemida entre $t=0,5$ h y $t=24$ h equivale a la concentración de 4,25-70,75 $\mu\text{g/mL}$, para la furosemida con Meglumina al 4% con una concentración en un rango de 6,20-51,72 $\mu\text{g/mL}$, y para la furosemida con Meglumina al 20% con un rango de concentración plasmática de 6,45-43,72 $\mu\text{g/mL}$. (Tabla 10)

Tabla 10: Área bajo la curva calculados a partir de las medianas de las concentraciones plasmáticas.

Tiempo	AUC Furo	AUC Meg 4%	AUC Meg 20%
0.5	4,25	6,20	6,45
1	11,33	14,00	15,29
2	22,21	19,74	24,68
4	39,36	29,36	38,81
6	52,20	38,35	43,72
12	70,75	51,72	43,72
24	70,75	51,72	43,72

En la figura 12 se comparan las tres formulaciones, los resultados reflejan que la furosemida sin excipiente alcanza el área bajo la curva más alta a lo largo del tiempo, mientras que en combinación con meglumina, para ambas concentraciones, muestra valores menores, siendo más baja con el 2%. A partir de la sexta hora, la curva de furosemida con MEG al 2% se estabiliza, mientras que la de MEG al 4% continúa en

ascenso hasta las 12 horas, aunque sin superar la furosemida sola.

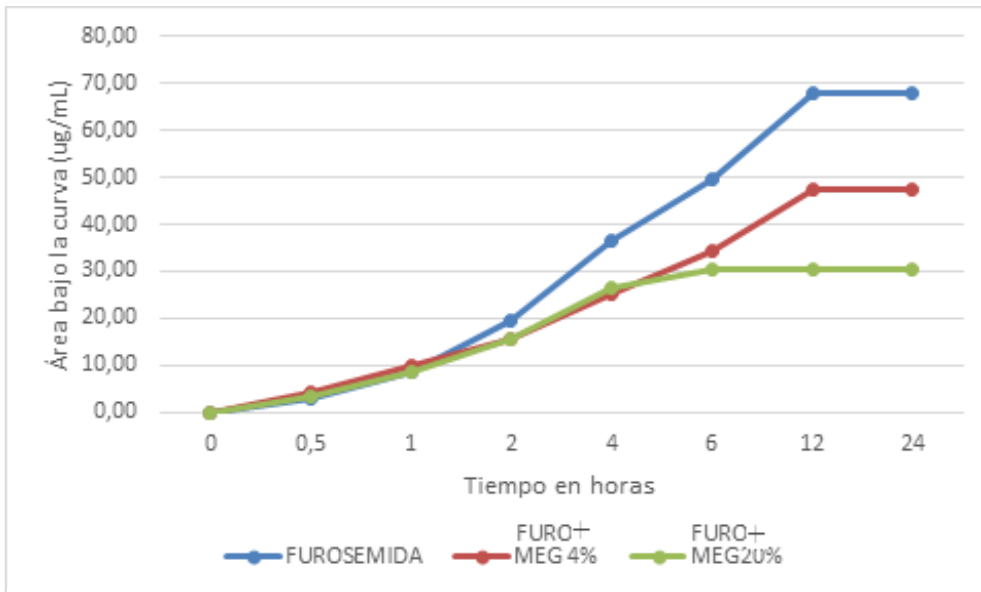


Figura 12: Área bajo la curva de los tres grupos vs tiempo en horas, la mayor ABC encontrada es la de las concentraciones luego de administración de furosemida sin meglumina.

VII. Discusión

En cuanto a la biodisponibilidad por vía oral de una suspensión de furosemida en un grupo de ratas Sprague-Dewley, se evidenció que la concentración máxima más baja fue la de furosemida, ambas formulaciones con meglumina fueron altas sin diferencia significativa entre ellas. La formulación con meglumina al 20% fue eliminado a la sexta hora, mientras que a esa misma hora la formulación de furosemida tuvo la más alta concentración 6,18 µg/mL.

Con respecto a otras formulaciones de furosemida; Goud et al. (34) evidenció que los cocristales con mayor solubilidad fueron la furosemida-citosina, furosemida-adenina y la furosemida-cafeína con valores aproximadamente de 11,7, 6 veces mayores respectivamente que la furosemida normal y, la velocidad de disolución fue dos veces mayor que el fármaco puro.

Gutiérrez et al. (36), también, determinó la concentración que obtuvo mayor resultado en la velocidad de disolución de la furosemida fue de 1:2, donde se alcanzó hasta un 100% de disolución del fármaco para gránulos y 95.45% para mezclas físicas, a diferencia

de la furosemida que consiguió un 72.62%. Sin embargo, en las pruebas estadísticas se mostró diferencias significativas al compararla con la furosemida ($p < 0.05$). Por último, Coty et al. (37) obtuvo que la furosemida cristalizada tuvo una mejora en la velocidad de 4.5 veces más que la furosemida normal.

En cuanto a la biodisponibilidad oral de furosemida con Meglumina al 4% en un grupo de ratas macho Sprague-Dawley, se registró una concentración de 467,04 $\mu\text{g/mL}$ a los 0,5 h, 202,49 $\mu\text{g/mL}$ a 1 h, 153,00 $\mu\text{g/mL}$ a 2 h, 93,14 $\mu\text{g/mL}$ a 4 h y 100,30 $\mu\text{g/mL}$ a las 6 h. Por otro lado, para la furosemida con Meglumina al 20% en el mismo grupo de ratas, se observó una concentración de 361,37 $\mu\text{g/mL}$ a los 0,5 h, 141,56 $\mu\text{g/mL}$ a 1 h, 193,23 $\mu\text{g/mL}$ a 2 h, 84,54 $\mu\text{g/mL}$ a 4 h y 80,25 $\mu\text{g/mL}$ a las 6 h.

En referencia a investigaciones en meglumina; Yamashita et al. (15) alcanzó que la Meglumina proporciona una alta solubilidad al telmisartán dependiendo del pH. Así mismo, Haiying et al. (40) utilizaron Meglumina para mejorar la solubilidad y biodisponibilidad de la glimepirida utilizando la técnica de hidrotropia, en donde se observó la formación de enlaces puente de hidrogeno en el complejo. La solubilidad de la glimepirida aumentó hasta 24.000 veces en una relación de peso de 1:10 (glimepirida: Meglumina) y, en la evaluación in vitro de la disolución, el fármaco se disolvió en un 95% a las dos horas, mientras que la glimepirida en forma pura se disolvió en el periodo de 12 horas.

El trabajo de Lévano y Vázquez el 2021 concluyó que la capacidad de meglumina como contraión incrementó la velocidad de disolución de furosemida en estudios in vitro con una diferencia estadística significativa para todas las formulaciones con meglumina en comparación a la de furosemida (49). Este estudio in vivo complementa dicho análisis, si bien la concentración máxima alcanzada es inferior en las ratas administradas con la formulación sin meglumina, es decir las formulaciones con meglumina tienen una mayor biodisponibilidad a la media hora, esta no se observa en una mayor área bajo la curva. Por otro lado, cuando el proyecto fue aprobado, no se contaba con el resultado del trabajo citado, y se desconocía que la formulación con mayor área bajo la curva sería de la formulación al 10%, no se descarta la posibilidad que esta formulación en un estudio

in vivo sí obtenga una mejora en la biodisponibilidad de furosemida en concentración plasmática. En otras palabras, los resultados obtenidos en este estudio indican que la administración de furosemida con meglumina al 20% resultó en una concentración plasmática máxima (C_{max}) más alta en comparación con la furosemida sola, lo que sugiere una mejora en la biodisponibilidad del fármaco (50). Este hallazgo es consistente con estudios in vitro citado al inicio; meglumina al actuar como agente solubilizante y modificador del pH, puede aumentar la solubilidad y, por ende, la absorción de fármacos con baja solubilidad acuosa, como la furosemida (49).

Por otro lado, Zhu et al. (39) demostró una mayor solubilidad al aumentar la concentración de Meglumina. También, se observó un aumento significativo en la disolución en relación molar repaglinida y Meglumina de 1:2 (n/n). En la difracción de rayos x no se evidenció picos en la solución del fármaco con Meglumina, lo que permitió inferir la formación de complejos entre estos y evidenció que la Meglumina podría ser utilizada para mejorar la solubilidad de este fármaco en especial en la presentación de tabletas.

Los valores de T_{max} y C_{max} de la curva de biodisponibilidad de furosemida y de la formulación de furosemida con Meglumina al 4 % y al 20%, en donde se obtuvo un valor de concentración plasmática de 467,035 µg/mL de furosemida con Meglumina al 4% y un valor de 361,37 de furosemida con Meglumina al 20%. En base a lo evidenciado anteriormente cabe destacar que la Meglumina también es empleado como principio activo, cuando forma enlaces con antimonios pentavalentes (Sb⁺⁵) es útil para el tratamiento de leishmaniasis; Dr. Coelho et. investigaron el efecto de Meglumina antimoniato en la actividad de diferente citocromos P450 (CYP) IA, CYP2A5, CYP2E1, CYP2B9/10, CYP3A11 en hígados de ratones hembra y macho (51).

Otro estudio reportó en el 2019 que este principio activo presenta un mejor efecto anti-leishmania cuando son administrados como nanopartículas. Una concentración de 62,5 µg/mL de nanopartículas sulfito antimonio de Meglumina inhibió el 50 % de amastigotes. Dicha formulación no disminuyó significativamente el tamaño de la lesiones en ratones BALB/c machos; sin embargo sí mejoró la disminución de la carga parasitaria (52).

Con respecto al área bajo la curva, a pesar de esta mayor C_{max}, se observó que el área

bajo la curva (AUC) fue menor para las formulaciones con meglumina al 20%. Esto se corresponde con una eliminación más rápida del fármaco, posiblemente debido a una mayor solubilidad y absorción que aceleran su metabolismo y excreción. Un resultado diferente se reportó en la tesis de Pinedo (2019), donde una formulación líquida desarrollada experimentalmente logró superar significativamente el AUC de la solución oral de referencia (53). Esta diferencia podría explicarse por las características propias del excipiente utilizado, es decir algunas modificaciones de formulación pueden disminuir la biodisponibilidad (como se observó en nuestro caso con meglumina).

Aunque no se encontraron estudios que relacionen directamente la mejora de la biodisponibilidad con un aumento en la eliminación de la furosemida, es plausible que una mayor concentración plasmática inicial pueda inducir mecanismos compensatorios que incrementen la velocidad de eliminación del fármaco.

Desde una perspectiva farmacodinámica, para un diurético de asa como la furosemida, una eliminación más rápida podría ser desfavorable, ya que reduciría la duración de su acción diurética (54). Esto podría traducirse en una menor eficacia en el manejo de condiciones como la insuficiencia cardíaca o la hipertensión, donde es crucial mantener una diuresis sostenida para el control de los síntomas (54). Por lo tanto, aunque la adición de meglumina al 20% mejora la solubilidad y la absorción inicial de la furosemida, la aceleración en su eliminación podría limitar su efectividad terapéutica.

X. Conclusiones

- a. La biodisponibilidad total (AUC) fue mayor en la furosemida sin meglumina, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas frente a las formulaciones con meglumina. Este hallazgo indica que, aunque la meglumina modifique la absorción, no asegura una mayor exposición global del fármaco, lo que resulta clave al considerar el objetivo terapéutico buscado.
- b. Las formulaciones de furosemida con meglumina (4 % y 20 %) mostraron un incremento significativo en la concentración máxima (C_{max}) respecto a la furosemida sola, lo que sugiere que la meglumina actúa como un solubilizante que favorece una absorción más rápida, pero también podría asociarse a una eliminación acelerada del fármaco.

XI. Referencias bibliográficas

1. Choi JS, Jo BW. Enhanced paclitaxel bioavailability after oral administration of pegylated paclitaxel prodrug for oral delivery in rats. *Int J Pharm.* 6 de agosto de 2004;280(1-2):221-7.
2. Van den Mooter G, Wuyts M, Blaton N, Busson R, Grobet P, Augustijns P, et al. Physical stabilisation of amorphous ketoconazole in solid dispersions with polyvinylpyrrolidone K25. *Eur J Pharm Sci Off J Eur Fed Pharm Sci.* enero de 2001;12(3):261-9.
3. Rodríguez-Spong B, Price CP, Jayasankar A, Matzger AJ, Rodríguez-Hornedo N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. *Adv Drug Deliv Rev.* 23 de febrero de 2004;56(3):241-74.
4. Adrjanowicz K, Kaminski K, Grzybowska K, Hawelek L, Paluch M, Gruszka I, et al. Effect of cryogrinding on chemical stability of the sparingly water-soluble drug furosemide. *Pharm Res.* diciembre de 2011;28(12):3220-36.
5. Strickley RG. Solubilizing excipients in oral and injectable formulations. *Pharm Res.* febrero de 2004;21(2):201-30.
6. Evaluation of the cytotoxicity of cyclodextrins and hydroxypropylated derivatives - ScienceDirect [Internet]. [citado 31 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517394900809>
7. De Jong WH, Borm PJ. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *Int J Nanomedicine.* junio de 2008;3(2):133-49.
8. Counter-ion effects on the krafft temperature and micelle formation of ionic surfactants in aqueous solution [Internet]. [citado 31 de mayo de 2022]. Disponible en: <http://lib.buet.ac.bd:8080/xmlui/handle/123456789/4500>
9. Research C for DE and. Inactive Ingredients Database Download. FDA [Internet]. 21 de abril de 2022 [citado 31 de mayo de 2022]; Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/inactive-ingredients-database-download>
10. A simple method to improve the dissolution of repaglinide and exploration of its mechanism - ScienceDirect [Internet]. [citado 31 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1818087614000373>
11. Yamashita S, Fukunishi A, Higashino H, Kataoka M, Wada K. Design of supersaturable formulation of telmisartan with pH modifier: in vitro study on dissolution and precipitation. *J Pharm Investig.* 20 de febrero de 2017;47.
12. Lindenberg M, Kopp S, Dressman JB. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the

- biopharmaceutics classification system. Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV. septiembre de 2004;58(2):265-78.
13. Nagahara N, Akiyama Y, Higaki K, Kimura T. Animal models for predicting potency of oral sustained-release adhesive microspheres in humans. Int J Pharm. 22 de febrero de 2007;331(1):46-53.
 14. Hussien M, Essa E, El-Gizawy S. INVESTIGATION OF THE EFFECT OF FORMULATION ADDITIVES ON TELMISARTAN DISSOLUTION RATE: DEVELOPMENT OF ORAL DISINTEGRATING TABLETS. 30 de junio de 2019;
 15. Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. Pharm Res. marzo de 1995;12(3):413-20.
 16. WHO_TRS_863_spa.pdf [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42258/WHO_TRS_863_spa.pdf;jsessionid=D768CC46BB7849656867386AA42AEA57?sequence=1
 17. Reddy BBK, Karunakar A. Biopharmaceutics Classification System: A Regulatory Approach. Dissolution Technol. 2011;18(1):31-7.
 18. Micronización: Su aplicación tecnológica en la elaboración de formas farmacéuticas terminadas [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152001000300001
 19. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/195727/>
 20. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs - PubMed [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24056053/>
 21. Simonazzi A, Bermudez J, Palma S. Dispersiones sólidas: Una estrategia tecnológica para aumentar la velocidad de disolución de fármacos en formas farmacéuticas sólidas. 10 de octubre de 2015;
 22. Paulekuhn GS, Dressman JB, Saal C. Trends in active pharmaceutical ingredient salt selection based on analysis of the Orange Book database. J Med Chem. 27 de diciembre de 2007;50(26):6665-72.
 23. HerbaZest [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. University of Maryland Medical Center. Disponible en: <https://www.herbazest.com/resources/university-of-maryland-medical-center>

24. Effects of palm bunch potash, trona and cashew gum-corn starch on furosemide. :14.
25. Goud NR, Gangavaram S, Suresh K, Pal S, Manjunatha SG, Nambiar S, et al. Novel furosemide cocrystals and selection of high solubility drug forms. *J Pharm Sci.* febrero de 2012;101(2):664-80.
26. Formulario Nacional de Medicamentos. CUBA. - FUROSEMIDA [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: <http://fnmedicamentos.sld.cu/index.php?P=FullRecord&ID=514>
27. Silbert BI, Ho KM, Lipman J, Roberts JA, Corcoran TB, Morgan DJ, et al. Does Furosemide Increase Oxidative Stress in Acute Kidney Injury? *Antioxid Redox Signal.* 10 de febrero de 2017;26(5):221-6.
28. Santos CA dos, Mazzola PG, Polacwicz B, Knirsch MC, Cholewa O, Penna TCV. Stability of furosemide and aminophylline in parenteral solutions. *Braz J Pharm Sci.* 1 de marzo de 2011;47(1):89-96.
29. Abraham Miranda J. Preparación y evaluación de sistemas y supramoleculares de sólidos farmacéuticos [Internet] [doctoralThesis]. 2018 [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/15286>
30. Gutierrez_sd.pdf [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/17985/Gutiérrez_sd.pdf?sequence=1&isAllowed=y
31. Coty JB, Martin C, Telò I, Spitzer D. Use of Spray Flash Evaporation (SFE) technology to improve dissolution of poorly soluble drugs: Case study on furosemide nanocrystals. *Int J Pharm.* 15 de noviembre de 2020;589:119827.
32. Aloisio C, Gomes de Oliveira A, Longhi M. Characterization, inclusion mode, phase-solubility and in vitro release studies of inclusion binary complexes with cyclodextrins and meglumine using sulfamerazine as model drug. *Drug Dev Ind Pharm.* julio de 2014;40(7):919-28.
33. Zhu Z, Yang T, Yanan Z, Gao N, Leng D, Ding P. A simple method to improve the dissolution of repaglinide and exploration of its mechanism. *Asian J Pharm Sci.* 1 de agosto de 2014;9.
34. Li H, Ma L, Li X, Cui X, Yang W, Shen S, et al. A simple and effective method to improve bioavailability of glimepiride by utilizing hydrotrophy technique. *Eur J Pharm Sci Off J Eur Fed Pharm Sci.* 18 de septiembre de 2015;77:154-60.
35. Preparation, evaluation, and pharmacokinetics in beagle dogs of a taste-masked flunixin meglumine orally disintegrating tablet prepared using hot-melt extrusion technology and D-optimal mixture design | Elsevier Enhanced Reader [Internet]. [citado 4 de junio de 2022]. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0928098721003225?token=22B657B2550FDE3777F0B47733526C5776461630F330E96A607F0D28DE74F2A8EC9B90982021239CFDC9826C4CD8743E&originRegion=us-east-1&originCreation=20220605002305>

36. Bazeed AY, Essa EA, Nouh A, El Maghraby GM. Co-processing of nateglinide with meglumine for enhanced dissolution rate: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Drug Dev Ind Pharm*. 2 de octubre de 2020;46(10):1676-83.
37. Gupta P, Bansal AK. Ternary amorphous composites of celecoxib, poly(vinyl pyrrolidone) and meglumine with enhanced solubility. *Pharm - Int J Pharm Sci*. 1 de noviembre de 2005;60(11):830-6.
38. Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci Biotechnol Biochem*. junio de 1998;62(6):1201-4.
39. Wiley.com [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. *Chromatography: Basic Principles, Sample Preparations and Related Methods* | Wiley. Disponible en: <https://www.wiley.com/en-us/Chromatography%3A+Basic+Principles%2C+Sample+Preparations+and+Related+Methods-p-9783527336203>
40. Ana#769;lisis instrumental / Douglas A. Skoog, James J. Leary; traduccio#769;n, Cristina Arin#771;o Blasco, Santiago Herna#769;ndez Cassou, LLuis Puignou Garci#769;a; revisio#769;n te#769;cnica, M#170; Teresa Galcera#769;n Huguet - Universidad de Almer#237;a [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: https://indaga.ual.es/discovery/fulldisplay/alma991000220719704991/34CBUA_UAL:VU1
41. Aguirre SH, Quirita YO, Fuentes JP, Carpio JC, Salas JV, Montesinos RN, et al. Desarrollo y validación de métodos bioanalíticos por HPLC- DAD para la cuantificación de fenitoína e inhibidores de la Glicoproteína- P (elacridar y tariquidar) en plasma. *Veritas*. 20 de enero de 2020;21(1):105-11.
42. Bonnin RR, Reverter FC, Poblador SE, Tomás FJG, Presa BG de la, Martínez RML. Validación de procedimientos de medida basados en la cromatografía líquida de alta resolución. *Rev Lab Clínico*. 2018;11(1):39-46.
43. Investigación de un fenómeno natural: ¿estudios *in vivo*, *in vitro* o *in silico*? [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/21655>
44. *Biological-assays-regulated-by-OECD-normative-REV-FIL.pdf* [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: <http://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2018/02/Biological-assays-regulated-by-OECD-normative-REV-FIL.pdf>

45. reserved MTII all rights. Análisis por Tamizado [Internet]. [citado 30 de diciembre de 2024]. Disponible en:
https://www.mt.com/mx/es/home/applications/Laboratory_weighing/sieve-analysis.html
46. MV_guide_2nd_ed_ES.pdf [Internet]. [citado 27 de julio de 2025]. Disponible en:
https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf
47. Bennani A, Alcáraz A, Martínez P, Tovar I, Cañizares F. Evaluación de un método de cuantificación de la concentración de furosemida por cromatografía en fase líquida de alta resolución.
48. Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos.
49. Influencia de la concentración del contraíón meglumina en la velocidad de disolución de furosemida [Internet]. [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/17266>
50. NEOACTIVES [Internet]. [citado 30 de diciembre de 2024]. ¿QUÉ ES LA BIODISPONIBILIDAD DE LOS MEDICAMENTOS? Disponible en:
<https://neoactives.com/blogs/noticias/que-es-la-biodisponibilidad-de-los-medicamentos>
51. Coelho D, De-Oliveira A, Parente T, Leal B, das Chagas L, Oliveira T, et al. In vivo and in vitro effects of pentavalent antimony on mouse liver cytochrome P450s. *Hum Exp Toxicol*. enero de 2017;36(1):33-41.
52. Mohtasebi S, Mohebbali M, Elikae S, Akhoundi B, Foroushani AR, Teimouri A, et al. In vitro and in vivo anti-parasitic activity of biogenic antimony sulfide nanoparticles on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER). *Parasitol Res*. septiembre de 2019;118(9):2669-78.
53. García Mayta DA. Inclusión de furosemida en sílice mesoporoso utilizando un sistema continuo de impregnación por humedad incipiente y su influencia en la disolución y biodisponibilidad en ratas. 2020 [citado 30 de julio de 2025]; Disponible en: <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/8554>
54. Calvo MV, García MJ, Martínez J, Fernández MM. 2.12. Farmacocinética clínica. *Farm Hosp*.

ANEXOS

Anexo 1: Áreas obtenidas por HPLC/DAD de las diluciones de Furosemida realizadas para la curva de calibración.

Dilución	Concentración µg/mL	Area 1	Area 2	Area 3	Promedio	Error
1/50	0,4	135,81883	123,96185	63,68098	107,82055	38,68299
2/50 1/50	0,8	195,02077	175,63148	213,10999	194,58741	18,74301
4/50 1/50	1,6	167,20073	414,78311	419,74301	333,90895	144,39485
10/50 1/50	4	918,98724	895,27106	881,0473	898,43520	19,16686
10/25 1/50	8	1760,4381 1	1816,0769	1767,40723	1781,30741	30,31221
5/10 1/50	10	2192,3356 9	2163,71729	2191,77197	2182,60832	16,36254

Anexo 2: Área bajo la curva de las concentraciones plasmática tras la administración de las tres formulaciones de furosemida.

Área bajo la curva (AUC)

0	FUROSEMIDA PURA			MEG4%			MEG20%		
TIEMPO	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0,5	85,52	67,63	0,00	115,25	107,99	0,00	88,58	90,04	0,00
0,75	156,20	101,45	0,00	187,46	161,98	0,00	149,55	135,06	0,00
1	217,32	122,92	21,49	214,00	175,20	17,90	182,91	152,68	15,33
2	393,44	336,72	219,21	305,18	274,55	137,41	293,33	324,84	122,72
4	609,37	705,36	560,41	465,42	468,36	303,08	429,76	604,83	293,28
6	812,19	939,32	817,22	617,63	649,48	454,82	478,79	681,48	371,74
12	1032,70	1302,90	1234,64	853,49	890,18	700,49	478,79	681,48	371,74
24	1032,70	1302,90	1234,64	853,49	890,18	700,49	478,79	681,48	371,74

Anexo 3: Áreas obtenidas por HPLC/DAD de las muestras del plasma tras administración de Furosemida sin Meglumina.

TIEMPO (horas)	Áreas muestras Rata 1		Áreas muestras Rata 2		Áreas muestras Rata 3	
	1	2	1	2	1	2
0	0	0	0	0	0	0
0,5	934,8	871,8	796,4	632,3	0	0
0,75	589,1	590,3	0	0	0	0
1	651,4	751,4	581,7	325,1	452	455,9
2	230,93	226,42	656,1	695,23	457,99	722,43
4	335,53	347,4	293,26	302,22	306,43	314,98
6	188,02	200,15	326,92	313,1	367,42	367,37
12	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0

Anexo 4: Áreas obtenidas por HPLC/DAD de las muestras del plasma tras administración de Furosemida con meglumina al 4%.

TIEMPO (horas)	Áreas muestras Rata 1		Áreas muestras Rata 2		Áreas muestras Rata 3	
	1	2	1	2	1	2
0	0	0	0	0	0	0
0,5	1189,1	1245,5	1191,1	1090	0	0
0,75	304,5	311,3	0	0	0	0
1	254,6	250,9	285,2	273,4	373,5	382,7
2	229,6	228	230,9	259,8	273,05	232,97
4	190,2	198,4	288,3	244,5	184,6	184,27
6	211,6	203,6	209,4	214,3	222,73	209,74
12	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0

Anexo 5: Áreas obtenidas por HPLC/DAD de las muestras del plasma tras administración de Furosemida con meglumina al 20%.

TIEMPO (horas)	Áreas muestras Rata 1		Áreas muestras Rata 2		Áreas muestras Rata 3	
	1	2	1	2	1	2
0	0	0	0	0	0	0
0,5	953	918,2	912,4	989,6	0	0
0,75	356	348,7	0	0	0	0
1	352,5	352,1	367,3	377,2	329,4	318,4
2	243,2	218,4	541,3	532,5	224,79	261,6
4	130,8	128,1	214,7	190,1	207,16	207,18
6	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0

Anexo 6: Prueba de normalidad de la distribución de datos de las concentraciones plasmáticas de ratas Sprague Dewley.

	Tipo de Concentración	Shapiro-Wilk			Criterio
		Estadístico	gl	Sig.	Sig<0.05 =<No normal
0.5 Minuto	FUROSEMIDA PURA	,899	3	,381	Normal
	MEG4%	,797	3	,108	Normal
	MEG20%	,762	3	,027	No Normal
0.75 Minutos	FUROSEMIDA PURA	,750	3	,000	No Normal
	MEG4%	,750	3	,000	No Normal
	MEG20%	,750	3	,000	No Normal
1 Hora	FUROSEMIDA PURA	,752	3	,004	No Normal
	MEG4%	,900	3	,387	Normal
	MEG20%	,990	3	,809	Normal
2 Horas	FUROSEMIDA PURA	,887	3	,346	Normal
	MEG4%	,957	3	,601	Normal
	MEG20%	,780	3	,068	Normal
4 Horas	FUROSEMIDA PURA	,948	3	,559	Normal
	MEG4%	,839	3	,211	Normal
	MEG20%	,796	3	,105	Normal
6 Horas	FUROSEMIDA PURA	,936	3	,511	Normal
	MEG4%	1,000	3	,983	Normal
	MEG20%	.	3	0.	

Anexo 7: Pruebas de Shapiro y Levene para las concentraciones plasmáticas de furosemida.

Resumen de Plasma

Tiempo (horas)	Tratamientos			p-value	shapiro	levene
	Furona	Muestra 20	Muestra 4			
0.00	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	-	-	-
0.50	17.02 ± 1.99 ^a	25.8 ± 0.21 ^b	24.8 ± 0.81 ^b	p<0.05	p=0.52	p=0.20
0.75	12.41 ± 0	9.64 ± 0	6.48 ± 0	p<0.05	p<0.05	-
1.00	11.28 ± 3.01 ^a	9.56 ± 0.66 ^a	6.38 ± 1.39 ^a	p=0.06	p=0.29	p=0.70
2.00	10.48 ± 4.99 ^a	9.22 ± 4.74 ^a	5.1 ± 0.26 ^a	p=0.30	p=0.97	p=0.60
4.00	6.66 ± 0.47 ^a	4.91 ± 1.19 ^a	4.52 ± 0.94 ^a	p=0.06	p=0.71	p=0.83
6.00	6.18 ± 1.88 ^a	0 ± 0 ^b	4.46 ± 0.09 ^c	p<0.05	p<0.05	p=0.18
12.00	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	-	-	-
24.00	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	-	-	-

*concentración plasmática en ug/ml (Media ± Desviación Estándar,n=3).

*letras distintas representan diferencias significativas (p<0.05).

Anexo 8: Certificado de análisis de furosemida.

6404

	SULESHVARI PHARMA FACTORY: - 6012/1, GIDC Indl. Estate, Near Panama Petrochem, Ankleshwar-393002, Dist. Bharuch		
	QUALITY CONTROL DEPARTMENT FINISHED PRODUCT CERTIFICATE OF ANALYSIS		

Product Name	FUROSEMIDE USP		
Batch No.	17/FRS/005	Product Code	FRS
QC Reference No.	FP-03-011	Quantity released	400.00 KG
Analysis Completed on	08.03.2017	Retest Date/ Expiry Date	FEB, 2022
Specification No.	SPE/API/FRS/00	Date of Mfg.	MAR, 2017
Revision No.	00		

Sr. No.	TEST	SPECIFICATION	OBSERVATION
1	Appearance	White to Slightly Yellow, Odorless, Crystalline Powder	Almost White Crystalline Powder
2	Solubility	Partially soluble in water, Freely soluble in Acetone in dimethyl formamide and in alkali hydroxide, soluble in methanol, sparingly soluble in alcohol, slightly soluble in ether, very slightly soluble in chloroform.	Complies
3	Identification	A. By UV	Absorptivities at 271 nm should not differ by more than 3.0 %
		B. By IR	The infrared absorption spectrum of the sample should be concordant with the spectrum of Furosemide WS
		C. By color Test	Formation of a red to red-violet color should be produced
4	Loss on drying	NMT 1.0 % w/w	0.21 %
5	Heavy Metals	NMT 20 ppm	Less than 20 ppm
6	Residue on ignition	NMT 0.10 % w/w	0.04 w/w
7	Related substance by HPLC	The sum of the response at 254 nm of those peaks eluting before Furosemide	Not More Than 0.25 % 0.08 %
		The sum of the response at 272 nm of those peaks eluting after Furosemide	Not More Than 0.25 % 0.10 %
8	Assay	98.00 % - 102.0 % on dry basis	99.52 %
9	Residual solvent	Acetic Acid :- NMT 5000 ppm	1130 ppm

Remark: The material complies/does not comply as per above specification

Prepared by/date	Reviewed by/date	Approved by/date
[Redacted]	[Redacted]	[Redacted]

Format No.: QC/GMP/14/F5-00



Anexo 9: Certificado de análisis de meglumina.

CERTIFICATE OF ANALYSIS



1.06187.1000 Meglumine EMPROVE® Essential Ph Eur, ChP, JP, USP

Batch E300007414

	Spec.Values		Batch Values	
Assay	99.0 - 100.5	%	99.7	%
Identification (IR)	IR-Spectrum Conforms	-	Complies	-
Identification A (USP)	Complies	-	Complies	-
Melting point	128 - 131	°C	129.8	°C
Spec. rotation (20/D; 10%; water; calc. on dried substance)	-17.0 - -16.0	°	-16.6	°
Appearance of solution (20% m/v; water)	Clear	-	Complies	-
Absorbance of solution (1 cm; 20% m/v; water) (at 420 nm)	Not more than 0.030	-	0.004	-
Chloride (Cl)	Not more than 90	ppm	Complies	ppm
Sulphate (SO ₄)	Not more than 150	ppm	Complies	ppm
Heavy metals (as Pb)	Not more than 10	ppm	Complies	ppm
Arsenic (As)	Not more than 1	ppm	Complies	ppm
Nickel (Ni)*	Not more than 5	ppm	1.2	ppm
Aluminium (Al)	Not more than 5	ppm	< 0.5	ppm
Iron (Fe)	Not more than 10	ppm	Complies	ppm
Reducing matter	Not more than 0.2	%	Complies	%
Related substances (Ind.)	Not more than 0.25	%	Complies	%
Related substances (Total)	Not more than 0.5	%	Complies	%
Sulphated ash	Not more than 0.1	%	Complies	%
Loss on drying	Not more than 0.5	%	0.01	%
Methanol (GC)	Not more than 3000	ppm	Complies	ppm
Other residual solvents (ICH Q3C)	Excluded by production process	-	Excluded by production - process	-
Bacterial endotoxins (LAL-test)	Less than 1.5	IU/g	Complies	IU/g

Date of release (DD.MM.YYYY): 04.07.2018

Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 31.07.2021

Elemental impurity specifications have been set considering ICH Q3D (Guideline for Elemental Impurities). Class 1-3 elements are not likely to be present above the ICH Q3D option 1 limit, unless specified and indicated (*).

Corresponds to Ph.Eur., ChP, JP, SP (general chapters) and USP.

Endotoxins performed by qualified external laboratories.

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
400 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA, Phone +1 (781) 533-6000

Page 1 of 2