

Determinación simultánea por cromatografía líquida de alta resolución de albendazol y triclabendazol en triclazol 22 suspensión, para uso veterinario

Simultaneous determination of Albendazol and Triclabendazol in Triclazol 22 suspension for veterinary purposes

MSc. Caridad Margarita García Peña,^I Maité Gafas Leyva,^I Ing. Karina Rosales Bosch,^{II} MSc. Raiselys Toirac Proenza,^{II} MSc. Juan Alberto Pérez Carrasco^{III}

^I Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. La Habana, Cuba.

^{II} Grupo Empresarial LABIOFAM. La Habana, Cuba.

^{III} Empresa de Producción de Biológicos "Carlos J. Finlay". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: la suspensión de triclazol 22 se emplea con fines veterinarios como antiparasitario pues contiene triclabendazol y albendazol.

Objetivo: validar el método analítico para la determinación simultánea del triclabendazol y albendazol en la suspensión de triclazol 22 aplicable al control de la calidad.

Métodos: para cuantificar el principio activo en el producto terminado, la separación se realizó a través de una columna cromatográfica Lichrosorb RP-18 (5 µm) (250 × 4 mm), con detección ultravioleta a 298 nm, empleando una fase móvil compuesta por acetonitrilo: solución amortiguadora de acetato de amonio pH 6,6 (70:30) y la cuantificación de este frente a una muestra de referencia con el método del estándar externo.

Resultados: los resultados de los parámetros evaluados en la validación realizada del método se encontraron dentro de los límites establecidos.

Conclusiones: el método analítico validado resultó lineal, preciso, exacto y específico en el rango de concentraciones estudiadas.

Palabras clave: triclabendazol, albendazol, triclazol, validación.

SUMMARY

Introduction: triclazol 22 suspension containing triclabendazol and albendazol is used as parasiticide for veterinary purposes.

Objective: to validate the analytical method for simultaneous determination of triclabendazol and albendazol in triclazol 22 suspension for quality control.

Methods: for quantitation of the active principle in the final product, the separation was performed through a liquid chromatographic column Lichrosorb RP-18 (5 µm) (250 × 4 mm), with ultraviolet detection range of 298 nm, by using a mobile phase of acetonitrile: ammonium acetate buffer solution of pH 6.6 (70:30); the quantitation was made against a reference sample by means of the external standard method.

Results: the results of the evaluated parameters in this validation yielded that they were within the set limits.

Conclusions: The validated analytical method was linear, precise, exact and specific in the range of studied concentrations.

Key words: triclabendazol, albendazol, triclazol, validation.

INTRODUCCIÓN

La suspensión de triclazol 22 contiene dos principios activos: el triclabendazol y el albendazol; ambos se emplean en la práctica como antiparasitario, en este caso se desarrolla esta formulación para uso veterinario.

El albendazol es un compuesto derivado de los benzimidazoles indicado como fármaco en el tratamiento de una variedad de infestaciones causadas por parásitos (cestodos, nematodos, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Trichuris trichiura*) y en el tratamiento de la esquistosomiasis.¹

El triclabendazol es el nombre de un medicamento antihelmíntico indicado en medicina humana y veterinaria, es un derivado de la familia de los benzimidazoles. A diferencia del resto de los medicamentos de su familia, el triclabendazol contiene un anillo de benceno con cloro sin el tradicional grupo carbamato. Muestra una alta eficacia contra la *Fasciola hepática* inmadura y adulta.²

No se informan métodos por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), para la determinación simultánea de triclabendazol y el albendazol en la suspensión. Sin embargo, existen métodos para determinar cada uno de los principios activos independientemente; por ejemplo: en el 2011, *Oltean*,³ desarrollo un método para determinar albendazol en una suspensión de rombendazole, empleando una columna Kromasil C18 (150 mm × 4,6 mm) como fase móvil metanol: agua destilada (65:35) a un flujo de 1,2 mL/min y detección ultravioleta a 308 nm; en el 2008, *Waldia* y otros,⁴ desarrollaron un método para determinar albendazol en tabletas, empleando una columna NUCLEODUR C18 (250 mm × 4,6 mm) como fase móvil acetonitrilo: metanol: agua destilada (60:30:10) a un flujo de 1,8 mL/min y detección ultravioleta a 308 nm. Mientras que en el año 2011, *Nischal* y otros,⁵ desarrollaron un método para determinar triclabendazol en suspensión, empleando una columna Vydac, C-18, (250 mm × 4,6 mm, 5 µ) como fase móvil acetonitrilo: metanol: agua destilada (45:45:10) a un flujo de 1,5 mL/min y detección ultravioleta a 254 nm; en ese mismo año *Shurbaji*,⁶ desarrolló y validó un método para determinar triclabendazol en

formulaciones farmacéuticas, empleando una columna RP C-18, como fase móvil acetoniitrilo: metanol: agua destilada: ácido acético (56:36:7,5:0,5) ajustando pH a 4,35 a un flujo de 1,0 mL/min y detección ultravioleta a 245 nm.

La CLAR le brinda la posibilidad al analista de emplear esta herramienta para solucionar los inconvenientes de los métodos espectrofotométricos en los estudios de estabilidad, pues además de presentar una alta sensibilidad y exactitud, es en esencia un método separativo; lo que permite medir con gran selectividad el compuesto deseado, siempre y cuando se encuentre un sistema cromatográfico que asegure una adecuada separación.^{7,8}

La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas de que el método es lo suficientemente fiable para producir el resultado esperado.

En cuanto a los parámetros analíticos que pueden ser considerados en la validación de un método analítico, según se expresa en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 33) y en la Regulación 41-2007 del Centro para el Control Estatal de los Medicamentos (CECMED), son exactitud, precisión, especificidad, linealidad, entre otros.⁹⁻¹¹

El presente trabajo tiene como objetivo validar un método analítico para el control de la calidad de triclazol 22 suspensión, para uso veterinario.

MÉTODOS

Las sustancias de referencias química de triclabendazol y albendazol fueron suministradas por el grupo de sustancias de referencia del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM, La Habana, Cuba), las cuales fueron analizadas por los métodos cromatográficos establecidos para realizar el control de la calidad de cada una de las materias primas, con una pureza de 99,6 % y 99,4 %, respectivamente. El producto terminado en forma de suspensión, fue elaborado en el Grupo Empresarial LABIOFAM, identificado como el lote 001, el cual cumplió con las especificaciones de calidad establecidas para el control de la calidad de las suspensiones.

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica. En el ensayo se empleó un cromatógrafo (KNAUER) con detector UV/VIS (KNAUER) ajustado a 298 nm, un inyector con un rulo de 20 µL e integrador (SHIMADZU CR 8 A). La separación se realizó isocráticamente empleando una columna Lichrosorb RP-18 (5 µm) (250 mm × 4 mm), a una temperatura de 35 °C y un flujo de 1,0 mL/min. La fase móvil óptima, consistió en una mezcla desgasificada de acetoniitrilo:buffer acetato de amonio pH 6,6 (70:30); como diluyente se empleó metanol.

Preparación de la muestra. Se pesó el equivalente a 1 mL de muestra; se trasvasó a un volumétrico de 100 mL adicionándose metanol; se colocó la muestra en un baño ultrasónico por 5 min y se completó volumen con metanol. Se tomó 1 mL de la solución anterior y se trasvasó a un volumétrico de 100 mL adicionándose metanol, se aplicó ultrasonido por 3 min y se completó volumen con metanol (concentración de trabajo 10 µg/mL de albendazol y 12 µg/mL de triclabendazol)

Preparación de la sustancia de referencia química albendazol. Se pesaron 10 mg de sustancia de referencia química de albendazol y se trasvasó a un volumétrico de 100 mL adicionándose metanol; se aplicó ultrasonido por 5 min y se completó volumen con metanol (solución A) (concentración de trabajo 0,1 mg/mL de albendazol)

Preparación de la sustancia de referencia química triclabendazol. Se pesaron 12 mg de sustancia de referencia química de triclabendazol y se trasvasó a un volumétrico de 100 mL adicionándose metanol, se aplicó ultrasonido por 5 min y se completó volumen con metanol (solución B) (concentración de trabajo 0,12 mg/mL de triclabendazol).

Preparación de la sustancia de referencia química (albendazol más triclabendazol). Se tomó 1 mL de Solución A y 1 mL de solución B y se trasvasó a un volumétrico de 10 mL adicionándose 4 mL de metanol, se aplicó ultrasonido por 5 min y se completó volumen con metanol (concentración de trabajo 10 µg/mL de albendazol y 12 µg/mL de triclabendazol).

Validación del método analítico

La validación fue realizada según la Regulación 41-2007 (CECMED), evaluándose los parámetros que a continuación se describen:^{6,7}

Linealidad. Para el análisis de la linealidad se realizaron los modelos de tres determinaciones para cinco concentraciones diferentes de sustancias de referencia química: 60, 80, 100, 120, y 140 % de cada uno de los principios activos a cuantificar (albendazol y triclabendazol). Se determinaron las ecuaciones de las rectas, los coeficientes de correlación, las pruebas de significación estadística de significación de la pendiente S_b rel (%), los coeficiente de variación de los factores de respuesta y los ensayo de proporcionalidad.

Exactitud. Para el análisis de exactitud se realizaron los modelos de tres réplicas de placebo cargado con cada uno de los principios activos para tres concentraciones diferentes: 80, 100, 120 %, para el albendazol y se siguió la misma metodología para el triclabendazol, empleando el método de recuperación; se determinaron los % de recuperación, las desviaciones estándar y los coeficientes de variación. Se determinaron además las pruebas de *Gochran* con vistas a comprobar si la variación de la concentración produce diferencias significativas en los resultados y las pruebas de Student para determinar diferencias significativas entre la recuperación media y el 100 %.

Precisión. Para los estudios de la precisión sugirió los modelos de repetibilidad seis réplicas para cada uno de los principios activos a cuantificar (albendazol y triclabendazol). Con ellas se determinaron los valores medios, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

De igual manera para los ensayos de la precisión intermedia se utilizaron tres niveles de concentración que corresponden al 80, 100 y 120 % de cada uno de los principios activos en la muestra de interés, para cada uno de los principios activos a cuantificar (albendazol y triclabendazol), para dos analistas y tres días diferentes. Se determinaron las pruebas de Fisher y t de Student para determinar si existen diferencias significativas entre los resultados al variar las condiciones de análisis.

Especificidad. Para el estudio de especificidad se analizaron: la sustancia de referencia de albendazol, la sustancia de referencia de triclabendazol, el placebo sin albendazol y sin triclabendazol, el placebo sin albendazol y con triclabendazol, el placebo con albendazol y sin triclabendazol y las muestras de producto terminado.

Criterio de aceptación: no debe obtener señales en la zona de elusión del triclabendazol en el placebo que contiene albendazol y no contiene triclabendazol. Tampoco debe observarse señal en la zona de elusión del albendazol en el placebo

que contiene triclabendazol y no contiene albendazol. No debe observarse señal en la zona de elusión de cada uno de los principios activos de interés en el placebo que no contienen ni albendazol, ni triclabendazol. Las áreas bajo las curvas de los patrones y de los principios activos a cuantificar, en el producto terminado deben ser similares.

RESULTADOS

La figura muestra los resultados del estudio de especificidad del método. Como se observa en el cromatograma correspondiente a la muestra placebo, no se obtuvo ninguna señal en la zona de interés, al ser comparado con la señal obtenida para las soluciones estándar de referencias y de la muestra de suspensión, lo cual indica que los excipientes o sustancias auxiliares de la solución no interfieren en la determinación del principio activo.

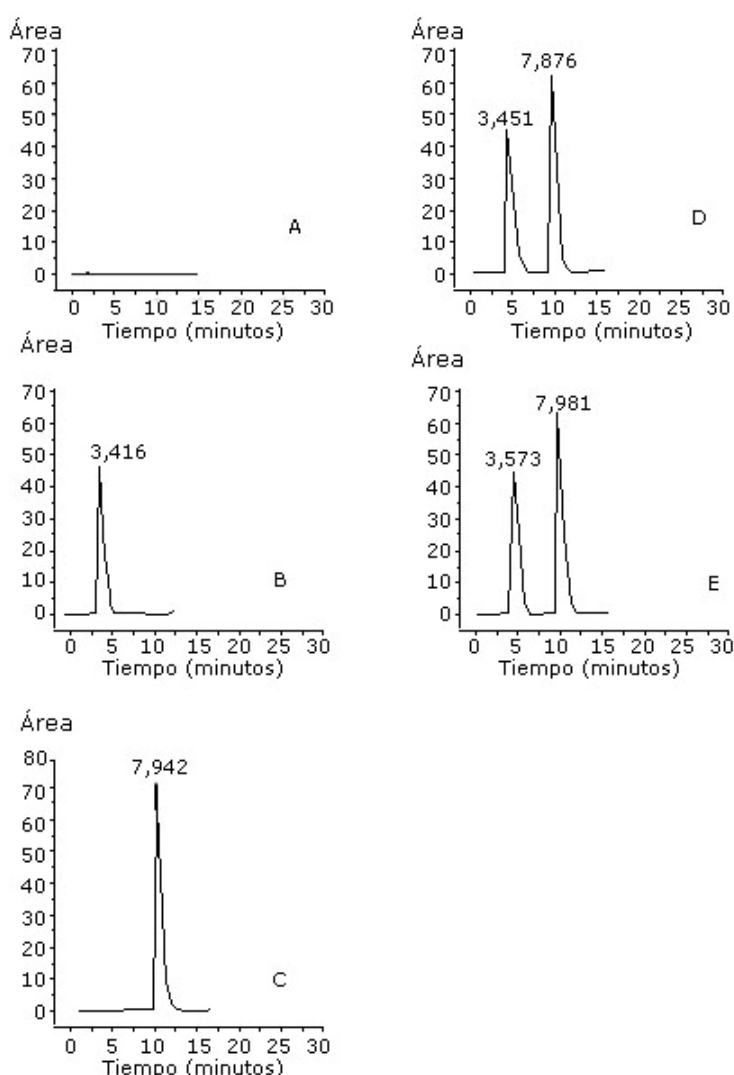


Fig. Resultados del estudio de especificidad del método. Cromatogramas del placebo sin albendazol y sin triclabendazol (A); placebo sin triclabendazol y con albendazol (B); placebo con triclabendazol y sin albendazol (C); solución de referencia química (albendazol + triclabendazol) (D); muestra (E).

En la tabla 1 se informan los resultados del estudio de la linealidad del sistema. Para el triclabendazol y el albendazol, los coeficientes de regresión lineal fueron de 0,999 y 0,998, respectivamente, y los coeficientes de variación de los factores de respuesta resultaron iguales a 2,05 y 3,26.

El resultado del estudio de precisión del método desarrollado se presenta en las tablas 2, 3 y 4. En el estudio de repetibilidad realizado para el triclabendazol y el albendazol, las medias obtenidas fueron de 99,5 % y 99,3 % y los coeficientes de variación fueron de 0,03 % y 0,06 %, respectivamente.

Tabla 1. Estudio de linealidad

Parámetros	Albendazol	Triclabendazol	Límites
Ecuación de la recta	$Y = 5812,75X + 50,61$	$Y = 86741,10X - 10799,03$	$Y = bX + a$
Coefficiente de regresión lineal	$r = 0,999$	$r = 0,999$	$r \geq 0,990$
Coefficiente de determinación	$r^2 = 0,998$	$r^2 = 0,999$	$r^2 \geq 0,980$
Significación estadística de la varianza de la pendiente (b)			
Desviación estándar relativa de la pendiente	Sb rel (%) = 1,97	Sb rel (%) = 0,44	Sb rel (%) $\leq 2,0$ %
Coeficiente de variación de los factores de respuesta			
Coefficiente de variación del factor de respuesta	CV _F = 3,26 %	CV _F = 2,05 %	CV _F $\leq 5,0$ %

Tabla 2. Estudios de la repetibilidad del método analítico

Réplicas	Albendazol (%)	Triclabendazol (%)
1	99,7	99,7
2	99,1	99,5
3	99,5	99,3
4	99,3	99,5
5	99,1	99,8
6	99,4	99,4
	X _{media} = 99,3 CV = 0,06 %	X _{media} = 99,5 CV = 0,03 %

Tabla 3. Estudio de la precisión intermedia del método analítico-triclabendazol

Niveles	Analista 1 (%)			Analista 2 (%)		
	1er. día	2do. día	3er. día	1er. día	2do. día	3er. día
80 %	79,8	79,7	79,8	80,1	79,6	80,2
	79,5	79,6	79,4	79,7	79,9	79,7
	80,1	79,7	79,5	79,9	80,2	79,8
100 %	99,7	99,8	99,7	99,5	99,3	99,6
	99,5	99,4	99,8	99,8	99,2	99,4
	99,3	99,5	99,5	99,4	99,7	99,8
120 %	120	119,8	120,1	119,2	119,7	119,7
	119,5	119,7	119,7	119,7	120,2	119,3
	119,4	119,4	119,3	119,6	119,4	119,4
Análisis estadístico Prueba de Fischer						
Prueba de significación de Fisher por analistas ($F_{tab}(8/8; 0,05) = 3,44$)		Prueba de significación de Fisher por día ($F_{tab}(5/5; 0,05) = 5,05$)				Límites
		Niveles	Días 1/2	Días 2/3	Días 1/3	$F_{exp} \leq F_{tab}$
80 %	1,12	80	1,09	1,47	1,34	
100 %	0,68	100	1,54	2,01	1,30	
120 %	0,57	120	1,18	1,11	1,31	
Prueba de t Student						
Prueba de significación de Student por analistas ($t_{tab}(16; 0,05) = 2,12$)		Prueba de significación de Student por días ($t_{tab}(10; 0,05) = 2,22$)				Límites
		Niveles	Días 1/2	Días 2/3	Días 1/3	$t_{exp} \leq t_{tab}$
80 %	2,07	80	0,61	0,88	0,34	
100 %	0,59	100	0,41	1,29	0,99	
120 %	0,57	120	0,81	0,66	0,10	
Coeficiente de variación						
Niveles		Analista 1		Analista 2		Límites
80 %		0,26		0,28		$CV \leq 2 \%$
100 %		0,18		0,22		
120 %		0,23		0,25		

Tabla 4. Estudio de la precisión intermedia del método analítico-albendazol

Niveles	Analista 1 (%)			Analista 2 (%)		
	1er. día	2do. día	3er. día	1er. día	2do. día	3er. día
80 %	78,9	79,2	79,1	78,7	78,9	79,2
	79,2	79,4	78,8	79,2	79,3	79,1
	79,1	79,5	78,7	79,6	79,5	79,5
100 %	99,7	99,7	99,4	99,3	99,8	99,2
	99,1	99,2	99,6	99,1	99,4	99,3
	99,5	99,4	99,1	99,4	99,6	99,2
120 %	119,2	119,4	119,5	119,4	119,3	119,5
	119,5	119,2	119,6	119,6	119,8	119,1
	119,7	119,2	119,6	119,5	119,6	119,6
Análisis estadístico						
Prueba de Fischer						
Prueba de significación de Fisher por analistas ($F_{tab} (8/8; 0,05) = 3,44$)		Prueba de significación de Fisher por día ($F_{tab} (5/5; 0,05) = 5,05$)				Límites
		Niveles	Días 1/2	Días 2/3	Días 1/3	$F_{exp} \leq F_{tab}$
80 %	0,80	80	1,80	1,59	1,13	
100 %	1,18	100	1,11	1,55	1,72	
120 %	0,91	120	1,94	1,53	1,27	
Prueba t de Student						
Prueba de significación de Student por analistas ($t_{tab} (16; 0,05) = 2,12$)		Prueba de significación de Student por días ($t_{tab} (10; 0,05) = 2,22$)				Límites
		Niveles	Días 1/2	Días 2/3	Días 1/3	$t_{exp} \leq t_{tab}$
80 %	0,92	80	1,18	1,56	0,29	
100 %	0,41	100	1,26	1,86	0,42	
120 %	0,59	120	0,55	0,53	0,02	
Coefficiente de variación						
Niveles	Analista 1		Analista 2		Límites	
80 %	0,26		0,29		$CV \leq 2 \%$	
100 %	0,24		0,22			
120 %	0,19		0,20			

En la tabla 5 aparecen los resultados del estudio de exactitud. Para el albendazol, la recuperación media fue de 99,51 % y el valor de t calculada (1,75) y de G calculada (0,527) fueron menores que los valores tabulados, t tabulada (2,31) para un 95 % de confianza y G tabulada (0,797) para un 95 % de confianza, $k = 3$ y $n = 3$. Mientras que para el triclabendazol, la recuperación media fue de 99,77 % y el valor de t calculada (1,58) y de G calculada (0,661) fueron menores que los valores tabulados, t tabulada (2,31) para un 95 % de confianza, $k = 3$ y $n = 3$ y G tabulada (0,797) para un 95 % de confianza, $k = 3$ y $n = 3$.

Tabla 5. Estudio de exactitud

Niveles	Recuperación Albendazol (%)	Resultados Albendazol	Recuperación Triclabendazol (%)	Resultados Triclabendazol	Límites
80 %	99,25	R _{media} = 99,51 % t _{calc} = 1,75 t _{tab} = 2,31 G _{calc} = 0,527 G _{tab} = 0,797	99,75	R _{media} = 99,77 % t _{calc} = 1,58 t _{tab} = 2,31 G _{calc} = 0,661 G _{tab} = 0,797	98,0-102,0 % t _{exp} ≤ t _{tab} G _{exp} ≤ G _{tab}
	99,63		99,63		
	99,37		100,12		
100 %	99,10		99,50		
	99,70		99,60		
	99,50		99,80		
120 %	99,33		99,75		
	99,75		100,17		
	99,92		99,58		

DISCUSIÓN

Los resultados del estudio de especificidad del método (figura), demuestran la especificidad del método al no presentarse interferencias de picos adicionales en la determinación de cada uno de los principios activos; no se evidencian interferencias de los excipientes.⁹⁻¹¹

Los resultados de los estudios de linealidad muestran coeficientes de regresión y de determinación superiores a los exigidos: 0,99 y 0,98 respectivamente; por lo que se demuestra con el valor del coeficiente de correlación obtenido, cercano a la unidad, la existencia de correlación con una probabilidad elevada, así como el grado de relación entre las variables concentración y respuesta detectada por el equipo empleado. También el coeficiente de variación de los factores de respuesta y la desviación estándar relativa de la pendiente fueron inferiores al normado como máximo para estos indicadores: 5 % y 2 %, respectivamente; ambos son considerados estimadores puntuales que permiten caracterizar la variabilidad. El valor obtenido de los coeficientes de variación de los factores de respuesta, permite demostrar que existe variabilidad en la relación respuesta y concentración para cada nivel evaluado. El intervalo de confianza del intercepto incluye al cero, lo que permite excluir la significación del error del intercepto. Se demostró con los resultados obtenidos la linealidad del sistema propuesto.

En los estudios de la repetibilidad (tabla 2) realizado a una misma muestra, por el mismo analista, el mismo día, a través de seis réplicas, se alcanzaron coeficientes de variación adecuados, lo que demuestra la buena precisión del método; además, se observa una variabilidad de los resultados dentro de los límites establecidos para los métodos cromatográficos: CV_d ≤ 2,0 %.⁹⁻¹¹

Según los valores que se obtienen en los estudios de precisión intermedia, de las pruebas de Fischer y t de Student, para el estudio de la precisión intermedia, se demuestra que no existen diferencias significativas entre las precisiones alcanzadas por los analistas en diferentes días para un 95 % de confianza, ya que los valores de F calculadas son menores que la F tabulada, estos resultados permiten establecer que las precisiones son similares (tablas 3, 4). Al realizar las pruebas t de Student los valores calculados resultaron menores que el tabulado, para un 95 % de confianza, lo cual demuestra que no existen diferencias significativas entre las medias alcanzadas, con un nivel de significación de un 5 %.

Los valores del porcentaje de recobro estuvieron dentro de los límites establecidos para los métodos cromatográficos (98 %-102 %) y los valores del coeficiente de variación para cada uno de los niveles de concentración estudiados resultaron ser menor que el 2 %. En la influencia del factor concentración sobre la variabilidad de los resultados de la exactitud al aplicar la prueba de Cochran, se obtuvo que las G calculadas fueron menores que la G tabulada para un 95 % de confianza, $k= 3$ y $n= 3$; por lo tanto, las varianzas de las concentraciones empleadas son equivalentes, lo cual indica que la concentración no influye en la variabilidad de estos. En el rango seleccionado en el estudio de exactitud, los valores de porcentaje de recobro están dentro de los límites establecidos para los métodos cromatográficos (98 %-102 %), y los valores del coeficiente de variación, para cada uno de los niveles de concentración estudiados, fueron menores que el 2 %.⁹⁻¹¹

En conclusión, el método analítico validado por CLAR para el control de la calidad de la suspensión de triclazol 22, resultó específico, lineal, exacto y preciso en el rango de concentraciones estudiadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schistomiasis and Soil-Transmitted Parasite Infections: Preliminary Estimates of the Number of Children Treated with Albendazole or Mebendazole. WER. 2006; 81(16): 145-64.
2. Incari R. Infección humana por Fasciola hepática en Venezuela: reporte de un caso geriátrico. Invest Clin. 2003; 44(3): 255-60.
3. Oltean E, Nica A. Development and validation of a RP-HPLC method for quantization studies of Albendazole suspension dosage forms of Rombendazol. Medicamentul Veterinar. 2011; 5(2).
4. Waldia A. Validated Liquid Chromatographic method for simultaneous estimation of Albendazole and Ivermectin in tablet dosage. Indian J Chem Technol. 2008; 15: 617-20.
5. Nischal K. A Simple RP-HPLC Method for Estimation of Triclabendazole and Ivermectin in a Pharmaceutical Suspension Dosage Form. Current Pharm Res. 2011; 1(4): 306-10.
6. Shurbaji M. Development and validation of a new HPLC-UV method for the simultaneous determination of triclabendazole and ivermectin B1a in a pharmaceutical formulation. Current Pharm Res. 2011; 1(4): 310-9.
7. Dierksneier G. Métodos cromatograficos. La Habana: Ed. Científico-Técnica; 2005. p. 1-4, 256-412.

8. Guidance for Industry. Analytical Procedures and Methods Validation Chemistry, Manufacturing, and Controls Documentation. Washington: FDA/Center for Drug Evaluation and Research; 2001.

9. International Conference on Harmonization, ICH-Q2A. Validation of Analytical Procedures. Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Geneva: ICH; 1995.

10. The United States Pharmacopeial Convention. USP 33. United States Pharmacopeia. 33 ed. Rockville: Marck Printing; 2011.

11. Regulación 41-2007. Validación de métodos analíticos. La Habana: CECMED; 2007.

Recibido: 30 de noviembre de 2012.

Aprobado: 5 de enero de 2013.

Caridad Margarita García Peña. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ave. 26 No. 1605 entre Boyeros y Puentes Grandes. CP 10600. Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba. Correo electrónico: caridadgp@infomed.sld.cu