

00563
/
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE QUIMICA**

**"ESTUDIO DE DISOLUCION Y BIODISPONIBILIDAD
EN TABLETAS DE CARBAMAZEPINA ELABORADAS
POR DIFERENTES FABRICANTES"**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACEUTICAS
(B I O F A R M A C I A)
P R E S E N T A :
Q.F.B. ROSA DEL CARMEN MILAN SEGOVIA

MEXICO, D. F.

**TESTIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1989



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE GENERAL

	PAG.
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
CAP. 1 INTRODUCCION	1
CAP. 2 GENERALIDADES	
2.1 MONOGRAFIA DE LA CBZ	3
2.2 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS	3
2.3 PROPIEDADES FARMACOLOGICAS	6
2.4 ASPECTOS FARMACOCINETICOS	9
2.4.1 VIAS DE ADMINISTRACION	9
2.4.2 ABSORCION	9
2.4.3 DISTRIBUCION	10
2.4.4 METABOLISMO	11
2.4.5 ELIMINACION	13
2.5 DISOLUCION	14
2.6 BIODISPONIBILIDAD	16
2.7 METODOS ANALITICOS PARA DETERMINAR CBZ EN FLUIDOS BIOLOGICOS.	17
CAP. 3 PARTE EXPERIMENTAL	
3.1 SELECCION DE PRODUCTOS	20
3.2 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD	20
3.2.1 ENSAYOS DE IDENTIDAD	21
3.2.2 VARIACION DE PESO	21
3.2.3 TIEMPO DE DESINTEGRACION	21
3.3 ESTUDIO "in vitro"	22
3.3.1 ESTUDIO DE DISOLUCION	22
3.3.1.1 APARATOS	22
3.3.1.2 REACTIVOS Y SOLUCIONES	22
3.3.1.3 PREPARACION DE MEDIOS DE DISOLUCION.	22
3.3.2 PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION	23
3.3.3 EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO	24
3.3.3.1 LINEALIDAD	25
3.3.3.2 REPETIBILIDAD	25
3.3.4 ANALISIS DE LAS MUESTRAS Y PERFILES DE DISOLUCION	25
3.4 ESTUDIO "in vivo"	
3.4.1 DETERMINACION DE CBZ EN PLASMA	26
3.4.1.1 APARATOS	26
3.4.1.2 REACTIVOS	26
3.4.1.3 CONDICIONES DE OPERACION DEL CROMATOGRAFO DE LIQUIDOS	26
3.4.1.4 EXTRACCION DE CBZ EN PLASMA	27

3.4.2	PREPARACION DE SOLUCIONES ESTANDARES EN PLASMA	28
3.4.3	EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO	29
3.4.3.1	LINEALIDAD	30
3.4.3.2	REPETIBILIDAD	30
3.4.3.3	EXACTITUD	30
3.4.3.4	SELECTIVIDAD	30
3.4.3.5	ESTABILIDAD	30
3.4.4	ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD RELATIVA	31
3.4.4.1	PRODUCTOS SELECCIONADOS	31
3.4.4.2	SELECCION DE VOLUNTARIOS	31
3.4.4.3	DISEÑO ESTADISTICO	31
3.4.4.4	PROTOCOLO EXPERIMENTAL	32
3.4.4.5	ANALISIS DE LAS MUESTRAS	33
CAP. 4	RESULTADOS	
4.1	PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD	34
4.2	ESTUDIO "in vitro"	
4.2.1	EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO	37
4.2.1.1	LINEALIDAD	37
4.2.1.2	REPETIBILIDAD	42
4.2.2	ANALISIS DE LAS MUESTRAS Y PERFILES DE DISOLUCION	44
4.3	ESTUDIO "in vivo"	
4.3.1	EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO	49
4.3.1.1	LINEALIDAD	49
4.3.1.2	REPETIBILIDAD	52
4.3.1.3	EXACTITUD	53
4.3.1.4	SELECTIVIDAD	57
4.3.1.5	ESTABILIDAD	58
4.3.2	ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD RELATIVA	60
4.3.2.1	PRODUCTOS SELECCIONADOS	60
4.3.2.2	SELECCION DE VOLUNTARIOS	60
4.3.2.3	ANALISIS DE LAS MUESTRAS Y PERFILES FARMACOCINETICOS	61
CAP. 5	ANALISIS DE RESULTADOS	
5.1	PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD	64
5.2	ESTUDIO "in vitro"	
5.2.1	ESTUDIO DE DISOLUCION	64
5.2.2	EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO	65
5.2.3	PERFILES DE DISOLUCION	65

5.3 ESTUDIO "in vivo"	
5.3.1 EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO	75
5.3.2 ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD RELATIVA	75
5.3.2.1 DISEÑO ESTADISTICO	75
5.3.2.2 PERFILES FARMACOCINETICOS	75
5.3.2.3 CORRELACIONES "in vitro-in vivo"	83
CAP. 6 CONCLUSIONES	88
CAP. 7 APENDICE	
I NORMA IMSS PARA TABLETAS DE CBZ	91
II AUTORIZACION PARA ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD	101
III PERFILES DE DISOLUCION DE TABLETAS DE CBZ DE 200 mg	102
IV CONCENTRACIONES PLASMATICAS INDIVIDUALES (ug/ml) OBTENIDAS DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE 400 mg DE CBZ EN TABLETAS	104
V PARAMETROS FARMACOCINETICOS INDIVIDUALES OBTENIDOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE 400 mg DE CBZ EN TABLETAS	106
CAP. 8 BIBLIOGRAFIA	108

INDICE DE TABLAS

II. 1 PARAMETROS FARMACOCINETICOS REPORTADOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE TABLETAS DE CBZ	15
III. 1 LOTES DE TABLETAS DE CBZ ESTUDIADAS Y SUS RESPECTIVAS CLAVES	20
III. 2 METODOLOGIAS DE DISOLUCION APLICADAS A LAS TABLETAS DE CBZ ESTUDIADAS	23
III. 3 PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION DE CBZ EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE DISOLUCION	24
III. 4 CONCENTRACION DE ESTANDARES PARA LAS CURVAS DE CALIBRACION EN PLASMA	29
III. 5 DISEÑO ESTADISTICO EMPLEADO EN EL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD DE TABLETAS DE CBZ	32
IV. 1 RESULTADOS DE LA VARIACION EN PESO Y LA VALORACION DEL PRINCIPIO ACTIVO DE LAS TABLETAS DE CBZ ESTUDIADAS	35
IV. 2 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE DESINTEGRACION DE LAS TABLETAS DE CBZ	36

IV. 3	PARAMETROS ESTADISTICOS OBTENIDOS EN LA EVALUACION ESTADISTICA DE LA LINEALIDAD DE LOS CUATRO MEDIOS DE DISOLUCION EMPLEADOS	37
IV. 4	REPETIBILIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO PARA CUANTIFICAR CBZ EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE DISOLUCION	42
IV. 5	RESULTADOS OBTENIDOS DE 5 CURVAS DE CALIBRACION PARA CUANTIFICAR ECBZ Y CBZ EN PLASMA	49
IV. 6	PARAMETROS ESTADISTICOS OBTENIDOS EN LA EVALUACION DE LA LINEALIDAD DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR ECBZ Y CBZ EN PLASMA.	52
IV. 7	REPETIBILIDAD DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR ECBZ Y CBZ EN PLASMA	53
IV. 8.1	ESTIMACION DEL RECOBRO DE ECBZ EN MUESTRAS PLASMATICAS SOMETIDAS AL PROCESO DE ANALISIS	54
IV. 8.2	ESTIMACION DEL RECOBRO DE CBZ EN MUESTRAS PLASMATICAS SOMETIDAS AL PROCESO DE ANALISIS	56
IV. 9	ESTABILIDAD DEL ECBZ Y DE LA CBZ EN PLASMA A - 4 °C	59
IV.10	VARIABLES BIOLOGICAS DE LOS VOLUNTARIOS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD	60
IV.11	CONCENTRACIONES PLASMATICAS PROMEDIO EN ug/ml OBTENIDAS DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE UNA DOSIS DE 400 mg DE CBZ	62
V. 1	RESULTADOS DE LA PRUEBA DE LA DIFERENCIA MINIMA SIGNIFICATIVA PARA LA DISOLUCION ENTRE LOTES UTILIZANDO LOS DIFERENTES METODOS	67
V. 2	VALOR DE LA CONSTANTE DE DISOLUCION DE PRIMER ORDEN	68
V. 3	PORCENTAJE PROMEDIO DE CBZ DISUELTA CON LOS CUATRO METODOS EMPLEADOS (TABLETAS DE 200 mg)	70
V. 4	EFICIENCIA PROMEDIO DE LA DISOLUCION DE LAS TABLETAS ESTUDIADAS CON LOS CUATRO METODOS EMPLEADOS.	71
V. 5	COMPARACION ENTRE LOS VALORES DE LA DESVIACION ESTANDAR RELATIVA Y LA F CALCULADA PARA OBSERVAR DIFERENCIAS ENTRE LOTES	72
V. 6	CORRELACIONES LINEALES DESINTEGRACION-DISOLUCION QUE RESULTARON SER SIGNIFICATIVAS (p=0.05)	73
V. 7	PARAMETROS FARMACOCINETICOS PROMEDIO OBTENIDOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE CBZ EN TABLETAS (400 mg).	77
V. 8	PERFILES FARMACOCINETICOS CON DOBLE PICO	79
V. 9	ANALISIS DE VARIANZA DEL ABC DE 0 A 120 HORAS	81
V.10	VALORES DE LA DIFERENCIA MINIMA SIGNIFICATIVA ENTRE LOTES OBTENIDOS DEL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD PARA EL ABC DE 0 A 120 HORAS	82
V.11	CORRELACIONES "in vitro-in vivo" SIGNIFICATIVAS (p=0.05)	85

INDICE DE FIGURAS

2.1	FORMULA DESARROLLADA DE LA CBZ	3
2.2	METABOLITOS DE LA CBZ EN EL HUMANO	12
3.1	ESQUEMA DE EXTRACCION DE LA CBZ Y SU METABOLITO EN PLASMA	28
4.1.1	CURVA PATRON DE CBZ EN HCl 0.1N, pH = 1.0 ± 0.05 (n = 5)	38
4.1.2	CURVA PATRON DE CBZ EN FLUIDO GASTRICO SIMULADO S/ENZIMA, pH = 1.2 (n = 5)	39
4.1.3	CURVA PATRON DE CBZ EN FLUIDO INTESTINAL SIMULADO S/ENZIMA, pH = 7.5 (n = 5)	40
4.1.4	CURVA PATRON DE CBZ EN LAURIL SULFATO DE SODIO AL 1% (p/v) (n = 5)	41
4.2.1	PERFIL DE DISOLUCION DE LAS TABLETAS DE CBZ ESTUDIADAS. METODO I (HCl 0.1N, pH = 1.0 ± 0.05, CANASTILLAS, 100 rpm)	45
4.2.2	PERFIL DE DISOLUCION DE LAS TABLETAS DE CBZ ESTUDIADAS. METODO II (FLUIDO GASTRICO SIMULADO S/ENZIMA, pH = 1.2, PALETAS, 50 rpm).	46
4.2.3	PERFIL DE DISOLUCION DE LAS TABLETAS DE CBZ ESTUDIADAS. METODO III (FLUIDO INTESTINAL SIMULADO S/ENZIMA, pH = 7.5, PALETAS, 75 rpm)	47
4.2.4	PERFIL DE DISOLUCION DE LAS TABLETAS DE CBZ ESTUDIADAS. METODO IV (LAURIL SULFATO DE SODIO AL 1% p/v, PALETAS, 75 rpm)	48
4.3	LINEALIDAD DEL METODO ANALITICO DE EXTRACCION PARA CUANTIFICAR ECBZ EN PLASMA	50
4.4	LINEALIDAD DEL METODO ANALITICO DE EXTRACCION PARA CUANTIFICAR CBZ EN PLASMA	51
4.5	CRONATOGRAMAS	58
4.6	GRAFICA DE LA CONCENTRACION PLASMATICA PROMEDIO (n = 8) vs TIEMPO DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE TABLETAS DE CBZ (400 mg)	63
4.7	CORRELACION "in vitro-in vivo" PARA LAS TABLETAS DE CBZ. PORCENTAJE DISUELTAS A LOS 60 MINUTOS CON EL METODO III vs. ABC DE 0 A 120 HORAS	86

RESUMEN.

A la fecha no existe una prueba de disolución oficial para las tabletas de carbamazepina (CBZ). Este fármaco antiepiléptico presenta propiedades físicoquímicas caracterizadas por su baja solubilidad en agua y por su existencia en cristales polimorfos. Para estudiar la disolución de este producto se ensayaron cuatro diferentes medios de disolución: HCl 0.1N, fluido gástrico simulado sin enzima, fluido intestinal simulado sin enzima, y solución de lauril sulfato de sodio al 1% (p/v). El estudio se llevó a cabo en 10 lotes provenientes de cuatro fabricantes nacionales y en el producto innovador (Tegretol; Ciba Geigy, USA).

El porcentaje disuelto y la eficiencia de la disolución obtenidos con el empleo de HCl 0.1N fueron los más bajos, en cambio éstos índices presentaron los valores más altos al utilizar lauril sulfato de sodio al 1% como medio de disolución. El mayor poder de discriminación entre productos se obtuvo con la utilización de fluido gástrico simulado sin enzima, siguiéndole en orden descendente, con el empleo de fluido intestinal simulado sin enzima, bajo el cual además se observó una clara diferenciación de lotes de baja, intermedia y alta disolución.

Asimismo se efectuó un estudio de biodisponibilidad para las tabletas de CBZ empleando el producto innovador y 3 productos diferentes seleccionados con base a las características de disolución obtenidas con la aplicación de las cuatro metodologías de disolución ensayadas. La dosis administrada a voluntarios humanos adultos sanos del sexo masculino fue de 400 mg de acuerdo a un diseño cruzado de cuadrado latino (4x4). La concentración de CBZ en las muestras plasmáticas fue determinada por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR).

En su mayoría los datos se ajustaron a un modelo abierto de un compartimiento. La estimación de la biodisponibilidad se determinó con el valor del área bajo la curva de 0 a 120 horas, parámetro para el cual se observaron diferencias significativas entre lotes ($p=0.05$), lo que indicó que los productos fueron bioinequivalentes en relación al producto innovador. Este último producto se caracterizó por presentar una liberación lenta del fármaco en comparación del resto de los productos estudiados, cuyas constantes de absorción y frecuencia de aparición de efectos secundarios fueron las más altas. La presencia de un doble pico en algunos perfiles farmacocinéticos obtenidos, posiblemente se deba a recirculación enterohepática del fármaco.

Para encontrar una correlación "in vitro-in vivo" se relacionaron estadísticamente los valores de la constante de velocidad de disolución, del porcentaje disuelto y de la eficiencia de la disolución obtenidos de los diferentes medios de disolución, con el valor del área bajo la curva de 0 a 120 horas de cada producto calculado del estudio de biodisponibilidad. El comportamiento "in vivo" de las tabletas de CBZ estuvo mejor representado con la aplicación del método en el que se empleó fluido intestinal simulado sin enzima como medio de disolución ($p=0.05$).

ABSTRACT

At the present time it is not available an official dissolution test for carbamazepine tablets (CBZ). This antiepileptic drug presents physicochemical properties characterized by its low water solubility and its presence in polymorphous crystals. To study the dissolution of this product four different dissolution media were tested: HCl 0.1N, simulated gastric fluid without enzyme, simulated intestinal fluid without enzyme and a solution of sodium lauryl sulfate at 1% (w/v). The study was carried out in 10 lots from 4 Mexican manufacturers and in the innovator product (Tegretol; Ciba Geigy, USA).

The percentage of CBZ dissolved as well as the dissolution efficiency obtained with HCl 0.1N were the lowest, whereas these parameters had the highest values when sodium lauryl sulfate at 1% was used as the dissolution medium. The higher discriminant ability among products was obtained with the use of simulated gastric fluid without enzyme, followed in descending order, by the simulated intestinal fluid without enzyme which additionally showed a clear difference among lots of low, medium and high dissolution.

Also a study was carried out to assess the bioavailability of CBZ tablets in the innovator product and in 3 different products chosen with respect to the 4 different methodologies. The dosage administered to adult male volunteers was 400 mg according to a latin square crossover design. The CBZ concentration in the plasmatic samples was determined by high pressure liquid chromatography (HPLC).

Most of the data followed a one-compartment open model. The evaluation of the bioavailability was determined with the value of the area under the curve from 0 to 120 hours; this parameter had significative differences between lots ($p=0.05$) indicating that the products were bioinequivalents with respect to the innovator product. The formulation of the latter product was characterized by a slow release of the drug as compared to the other products studied whose absorption constants and frequency of secondary effects were the highest. The presence of some pharmacokinetics profiles with double peak probably due to enterohepatic recirculation of the drug.

With the objective of finding "in vivo-in vitro" correlations, the values of the rate dissolution constant, the percentage dissolved and the dissolution efficiency obtained from the different dissolution media were statistically related to the value of the area under curve from 0 to 120 hours for each product resulting from the bioavailability study. The "in vivo" behavior of the CBZ tablets was best represented by the use of the method with simulated intestinal fluid without enzyme as dissolution medium ($p=0.05$).

Capítulo 1. INTRODUCCION.

Dentro del proceso general del desarrollo de un medicamento y su control de calidad, es de particular importancia el contar con modelos adecuados "in vitro", que describan indirectamente el comportamiento "in vivo" del fármaco. Cuando se trata de formas farmacéuticas sólidas para administración oral, uno de los ensayos "in vitro" de mayor utilidad es sin lugar a dudas la prueba de disolución ya que, si se ha correlacionado con pruebas "in vivo", puede emplearse para predecir la biodisponibilidad e incluso la actividad terapéutica del fármaco (Swarbrick, 1970; Aiache, 1983). Por estas razones la prueba de disolución se ha considerado como un requisito farmacopeico para numerosos fármacos. Sin embargo muchos fármacos de gran uso en terapéutica, entre los que se pueden citar algunos antiepilépticos, carecen de una prueba de disolución oficial. Dentro de éstos se incluye a la carbamazepina (CBZ), un fármaco antiepiléptico que ha demostrado su eficacia para el tratamiento de la neuralgia del trigémino y diversos tipos de epilepsia (Kutt, 1978; Rall, 1985).

La CBZ se caracteriza por su baja solubilidad en agua, y por presentar polimorfismo así como por la presencia de cristales anhidros en las formas farmacéuticas sólidas (Kahela, 1983; Laine, 1984). Como resultado de lo anterior puede haber un retraso en su velocidad de absorción y por lo tanto en su biodisponibilidad. Los escasos reportes que existen al respecto señalan la aparición de fallas terapéuticas e incluso la producción de efectos adversos o tóxicos de los productos de CBZ estudiados, debidas principalmente a las diferencias significativas que se obtienen en sus perfiles de concentración plasmática contra tiempo (Pynnönen, 1978; Neuvonen, 1985). De ahí destaca la importancia que representaría el contar con una prueba de disolución para éste fármaco, lo que no ha ocurrido en parte por sus características ya mencionadas, y en parte por dificultades técnicas.

Por otro lado y pese a los antecedentes citados, en nuestro medio no existen informes en la literatura científica de estudios de bioequivalencia efectuados en tabletas de CBZ, las cuales están incorporadas en el Cuadro Básico de Medicamentos del Sector Salud con la clave 2608, siendo actualmente uno de los 50 medicamentos de mayor consumo.

Basados en esta información se consideró de utilidad llevar a cabo un trabajo de investigación en tabletas de CBZ en el que se cubrirían los siguientes objetivos:

- Comparar bajo cuatro metodologías diferentes de disolución el perfil de disolución de tabletas de CBZ provenientes de distintos laboratorios y del producto innovador.

- Determinar la bioequivalencia de tres formulaciones cuyos comportamientos de disolución se distingan como baja, mediana y alta disolución, utilizando como patrón de referencia el producto innovador.

- Investigar sobre una correlación "in vitro - in vivo", entre los parámetros de disolución de las cuatro metodologías de disolución y los parámetros obtenidos en el estudio de bioequivalencia, con objeto de poder aplicar la prueba de disolución como un modelo predictivo "in vitro" de la biodisponibilidad de las tabletas de CBZ.

Capítulo 2. GENERALIDADES.

2.1. MONOGRAFIA DE LA CARBAMAZEPINA (CBZ).

Nombre químico: 5H-dibenzo [b,f] azepina- 5-carboxamida.
5-carbamoil-5H-dibenzo [b,f] azepina.

Nombre genérico: Carbamazepina.

Nombres comerciales: -Tegretol (Producto innovador:
Ciba Geigy).
-Carbazep.
-Carbazina.
-Neugeron.

Fórmula condensada: C H N O
15 12 2

Fórmula desarrollada:

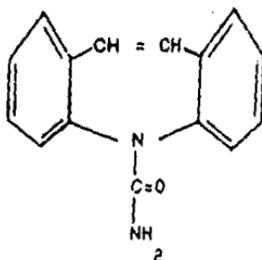


Fig. 2.1

Peso molecular: 236.26

2.2. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS.

2.2.1. Descripción: Polvo cristalino blanco, inodoro y de leve sabor amargo.

2.2.2. Punto de fusión: 189-193 ° C.

2.2.3. Solubilidad: Prácticamente insoluble en éter y en agua (aproximadamente 170 ug/ml a 24 ° C). Soluble en etanol, cloroformo, acetona y propilenglicol.

2.2.4. pKa: 12 (Burke, 1985).

2.2.5. Coeficiente de partición (cloroformo: agua): 94 (a pH de 3.4)

2.2.6. Extracción: Se extrae con solventes orgánicos como el diclorometano, a partir de soluciones acuosas alcalinas (Clarke, 1969; Smith, 1981).

2.2.7. Solvatos: La CBZ se encuentra tanto en la forma anhidra como en la forma solvatada, además que se ha reportado que puede presentar polimorfismo. Esta propiedad confiere a la CBZ primordial importancia en el desarrollo de preparaciones farmacéuticas, y como consecuencia, en la disolución y absorción del principio activo de éstas. (Kaneniwa, 1984).

Los cristales anhidros de la CBZ son prácticamente insolubles en agua y es difícil determinar su solubilidad debido a la rápida transición en agua a cristales dihidratados. Al parecer los cristales anhidros crecen rápidamente, y ésta es una razón del porqué la forma dihidratada de la CBZ parece disolverse en agua con mayor rapidez que la forma anhidra, la cual es termodinámicamente más activa. Este comportamiento se ha observado de igual manera cuando se ha estudiado la absorción de ambos cristales. La mayor velocidad de absorción corresponde a los cristales dihidratados (Kaheia, 1983; Kaneniwa, 1984; Laine, 1984).

La transición entre estos cristales depende en gran medida de la temperatura y de la humedad relativa, de tal manera que las condiciones de manufactura de las tabletas de CBZ y su almacenaje deben estar cuidadosamente controladas (Ciba Geigy, 1987).

2.2.8. Propiedades espectrales.

Espectro de absorción ultravioleta:

En metanol presenta absorción máxima a 212 nm y mínima a 256 nm.

En etanol posee absorción máxima a 215 nm y a 285 nm y una absorción mínima a 257 nm.

En H_2SO_4 0.1N presenta un pico máximo a 283 nm (ϵ 12, 1 cm 147) y una inflexión cerca de 255 nm.

2.2.9. Estabilidad.

La carbamazepina es un fármaco relativamente estable a temperatura ambiente. Se recomienda guardarlo y almacenarlo en recipientes bien cerrados y protegidos de la luz y de la humedad.

2.3. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS.

2.3.1. Antecedentes históricos.

La CBZ fue descubierta a finales de la década de los 50 y a principios de la década de los 60 en los Laboratorios Geigy de Basilea, como resultado del desarrollo farmacéutico de la imipramina. Las pruebas clínicas realizadas en Europa indicaron su utilidad en el tratamiento de la epilepsia psicomotora, por lo que se empleó desde 1974 como un fármaco anticonvulsivo. En Estados Unidos de Norteamérica se empleó para el tratamiento de la neuralgia del trigémino y del glossofaríngeo y para el control de crisis parciales o generalizadas en niños y en adultos (Levy, 1975; Kutt, 1978; Hooppener, 1980). Desde entonces, este fármaco ha demostrado ser tan efectivo como la fenitoína y el fenobarbital en el tratamiento del gran mal y de las crisis parciales complejas (Westenberg, 1978).

2.3.2. Mecanismo de acción.

La CBZ está relacionada químicamente con los antidepresivos tricíclicos. Deriva del iminoestilbeno, y el poseer un grupo carbamilo en la posición 5 le confiere actividad antiepiléptica potente (Rall, 1985). Las propiedades anticonvulsivas de la CBZ fueron demostradas por Theobald y Kunz (citado en Kutt, 1978), quienes reportaron haber logrado disminuir las crisis convulsivas en animales de prueba con ataques inducidos química y eléctricamente.

Parece actuar reduciendo efectivamente las respuestas polisinápticas y bloqueando la potenciación posttetánica, y se cree también que incrementa el umbral para las descargas corticales inducidas eléctricamente. Sin embargo, el mecanismo de acción de la CBZ no está bien esclarecido todavía (Kutt, 1978; Jones, 1981; Lewis, 1981; Kastrop, 1984; Worley, 1986).

2.3.3. Usos terapéuticos.

La CBZ se emplea tanto en niños como en adultos, ya sea sola o combinada con otros fármacos para la profilaxis de crisis tónico-clónicas generalizadas y crisis parciales incluyendo aquellas con sintomatología compleja (epilepsia del lóbulo temporal o epilepsia psicomotora). Otras indicaciones incluyen la neuralgia del trigémino y del glossofaríngeo, así como el dolor tabético relámpago, dolor de parestesias postraumáticas y neuropatías diabéticas (Rall, 1985; Ezquer, 1984).

En los últimos años se ha registrado un incremento en el uso psiquiátrico de la CBZ, considerándose ahora una alternativa al empleo de las sales de litio en pacientes con enfermedad bipolar, quienes no han respondido o no han tolerado adecuadamente las sales de litio. En consecuencia, se ha estudiado el efecto de la CBZ en combinación con haloperidol en el tratamiento de la psicosis excitante, y se ha encontrado mejoría en estados maniaco esquizofrénicos (Herrera, 1987).

2.3.4. Niveles terapéuticos y dosis.

En general el efecto antiepiléptico se obtiene cuando las concentraciones plasmáticas se encuentran entre 4 y 8 ug/ml, aunque existen considerables variaciones debidas a la edad, el sexo, el estado de enfermedad, etc. (Kutt, 1978; Riva, 1985). Se ha reportado que el epóxido de la CBZ, que constituye su principal metabolito, contribuye al efecto terapéutico actuando también como antiepiléptico (Strandjord, 1980).

Morselli (1971) determinó los niveles plasmáticos de la CBZ en un estudio efectuado en ratas, y encontró una correlación entre las concentraciones cerebrales y el efecto farmacológico, medido como una resistencia al electroshock, con una concentración mínima de 4ug/g de tejido cerebral.

No existe una relación simple entre la dosis de CBZ administrada y las concentraciones plasmáticas de la misma. La dosis recomendada y el intervalo de dosificación dependen en gran medida del tiempo de vida media, y como éste parámetro presenta gran variación interindividual, los esquemas de dosificación no están realmente establecidos. Sin embargo para el tratamiento de la epilepsia se sugiere iniciar con una dosis de 100 a 200 mg, administrada una o dos veces al día para minimizar los efectos secundarios, e incrementar gradualmente hasta 600 o 1200 mg por día, fraccionando la dosis en 3 o 4 tomas diarias para reducir a un mínimo las fluctuaciones de las concentraciones plasmáticas (Martindale, 1982; Ciba Geigy, 1987). Considerando todos éstos aspectos, Ezquer (1984) ha recomendado practicar el seguimiento de los niveles plasmáticos de la CBZ como un medio esencial en la individualización de la terapia con agentes antiepilépticos.

2.3.5. Reacciones adversas.

Los efectos colaterales de la CBZ son dependientes de la dosis y pueden ser considerados como síntomas de toxicidad. No obstante, los efectos colaterales se han

presentado en un amplio intervalo de concentraciones plasmáticas aún en aquellas correspondientes al intervalo terapéutico, especialmente en pacientes bajo terapia combinada con anticonvulsivos (Hoopener, 1980).

Las reacciones adversas más frecuentemente observadas, particularmente durante la fase inicial de la terapia son: vértigo, somnolencia, disturbios en la acomodación, náusea y vómito. En el sistema hematopoyético, en la piel y en el sistema cardiovascular se han registrado las reacciones más severas.

Sistema hematopoyético: anemia aplásica, agranulocitosis, trombocitopenia, leucopenia, leucocitosis y eosinofilia.

Piel: urticaria, prurito, reacción de fotosensibilidad, alteraciones en la pigmentación, alopecia y diaforesis.

Sistema cardiovascular: edema, hipertensión, hipotensión, síncope, colapso, arritmias, tromboflebitis primaria, adenopatías y linfadenopatías.

Otros síntomas menos comunes comprenden: sequedad de la boca, dolor abdominal, anorexia, diplopia, confusión, fatiga, ictericia hepatocelular y colestática, oliguria aguda y síndrome de secreción inapropiada hormona anti-diurética (Martindale, 1982; Ciba Geigy, 1987).

Parte de los efectos adversos se atribuye a la rápida absorción del fármaco (Neuvonen, 1985), o aunque no está bien esclarecido todavía, a la formación del metabolito 10, 11-epóxido (Hvidberg, 1976; Lancet, 1985).

2.3.6. Contraindicaciones y precauciones.

Se contraíndica su empleo en pacientes con antecedentes de depresión de médula ósea, padecimientos cardiacos, hipersensibilidad a la CBZ o sensibilidad a cualquiera de los compuestos tricíclicos tales como aminotriptilina, imipramina, nortriptilina, etc. Cuando se emplea este fármaco se deben vigilar estrictamente la función renal y hepática, y los parámetros hematológicos, de tal manera que cuando se detecten anomalías, pueda optarse por una reducción de la dosis o bien, discontinuar su uso. También debe suspenderse su administración a madres que amamantan a sus bebés ya que la eliminación de este fármaco en la leche puede llegar a un 60% de la concentración plasmática materna (Kastrup, 1984; Ciba Geigy, 1987).

2.3.7. Toxicidad.

La intoxicación aguda por CBZ puede ocasionar estupor o coma, hiperirritabilidad, convulsiones y depresión respiratoria. Una complicación tardía del tratamiento con CBZ es la retención de agua en especial en pacientes ancianos que presentan cardiopatías (Montoya-Cabrera, 1980; Rall, 1985).

2.3.8. Interacciones.

La administración simultánea de fenobarbital, fenitoína o primidona produce una marcada disminución de los niveles plasmáticos de CBZ (Hvidberg, 1976; Rall, 1985)

Se ha reportado que la administración concomitante de la CBZ con eritromicina, cimetidina, propoxifeno, isoniazida o con bloqueadores de los canales de calcio, provoca la elevación de los niveles plasmáticos de la CBZ dando lugar a que se presente toxicidad en algunos casos (Ciba Geigy, 1987).

Debido a la similitud en la estructura química de la CBZ con la de los antidepresivos tricíclicos, aquella no debe administrarse a pacientes que estén recibiendo un inhibidor de la monoaminoxidasa (Martindale, 1982; Lewis, 1981).

2.4. ASPECTOS FARMACOCINETICOS.

2.4.1. Vías de administración.

En la literatura se reportan numerosos trabajos experimentales efectuados con la participación de voluntarios sanos, pacientes epilépticos y animales de laboratorio, a los que se administra la CBZ principalmente por vía oral (Morselli, 1971; Chan, 1985; Venho, 1986). No existe formulación parenteral, por lo que también se ha estudiado la administración rectal de suspensiones o supositorios como una alternativa para aquellos pacientes impedidos bajo determinadas circunstancias de recibir el tratamiento por vía oral. La poca aceptación para la elección de esta vía se atribuye principalmente al efecto laxante que provoca la alta osmolaridad de la suspensión en propilenglicol o en sorbitol, y como consecuencia de ello, la pérdida del fármaco por la defecación (Levy, 1975; Graves, 1985; Neuvonen, 1987).

2.4.2. Absorción.

El interés primordial por estudiar los aspectos biofarmacéuticos de la CBZ se atribuye a su baja

solubilidad en agua. De ahí que numerosos investigadores consideren la influencia de éste hecho en los estudios de absorción de éste fármaco.

La CBZ se absorbe rápida y completamente a nivel de tracto gastrointestinal cuando se administra en una solución de propilenglicol por vía oral, pero a partir de tabletas la absorción se caracteriza por ser lenta, irregular y posiblemente incompleta. Esto último se apoya por la presencia de CBZ en las heces hasta en un 15% de la dosis ingerida. Por otro lado se ha observado que la fracción de fármaco absorbido puede aumentarse cuando éste se administra en presencia de alimento (Levy, 1975; Kahela, 1983).

Ya que la CBZ es prácticamente insoluble en medios acuosos, la velocidad de absorción está limitada por la velocidad de disolución en los fluidos gastrointestinales. En consecuencia, Riad y cols. (1986) al estudiar el proceso de absorción de éste fármaco señalan que pueden presentarse simultáneamente dos cinéticas de absorción: un proceso de primer orden que correspondería a una fase inicial de rápida disolución, seguida de una disolución más lenta caracterizada por un proceso de orden cero.

En lo que se refiere a comparar el proceso de absorción por diferentes vías de administración, se encuentran reportes interesantes que señalan que la CBZ se absorbe más lentamente después de administrar una suspensión por vía rectal que al administrarla por vía oral (Neuvonen, 1987; Graves, 1985). En 1975, Morselli estudió la absorción de la CBZ en pacientes epilépticos y no encontró diferencias significativas al administrar tabletas o suspensiones por vía oral.

Tras la administración de tabletas de CBZ en dosis de 400 mg, la concentración plasmática máxima alcanzada fluctúa entre 3 y 8 ug/ml aproximadamente, y esto suele ocurrir 2 a 6 horas después de su ingestión, aunque Chan (1985) y Neuvonen (1985) han encontrado valores hasta de 18 y 24 horas después.

2.4.3. Distribución.

La unión de la CBZ a las proteínas plasmáticas se ha estudiado empleando técnicas de ultrafiltración o de diálisis. Los estudios "in vitro" realizados a 37 ° C indican que hay una relación lineal entre la concentración de fármaco total y de fármaco libre en el rango de 5 a 50 ug/ml, por lo que el porcentaje de fármaco libre se incrementa con la concentración (Hooper, 1975). Varios autores han reportado que aproxi-

madamente 70 a 80 % de la CBZ presente en el plasma se une a proteínas, principalmente a la albúmina, no obstante que existe un alto grado de variación inter-individual (Kutt, 1978; McKichan, 1980; Aboul-Enein, 1980; Rall, 1985; Riva, 1985).

Después de su absorción, la CBZ se distribuye ampliamente en todos los tejidos. En animales experimentales se han observado las concentraciones más altas en el hígado y en los riñones, seguidos por el plasma, corazón y pulmones, mientras que las concentraciones cerebrales igualan a las concentraciones plasmáticas (Morselli, 1971).

En el hombre las concentraciones en el líquido cefalorraquídeo y en la saliva se aproximan a la concentración de fármaco libre en el plasma (Kutt, 1978; Hockings, 1986).

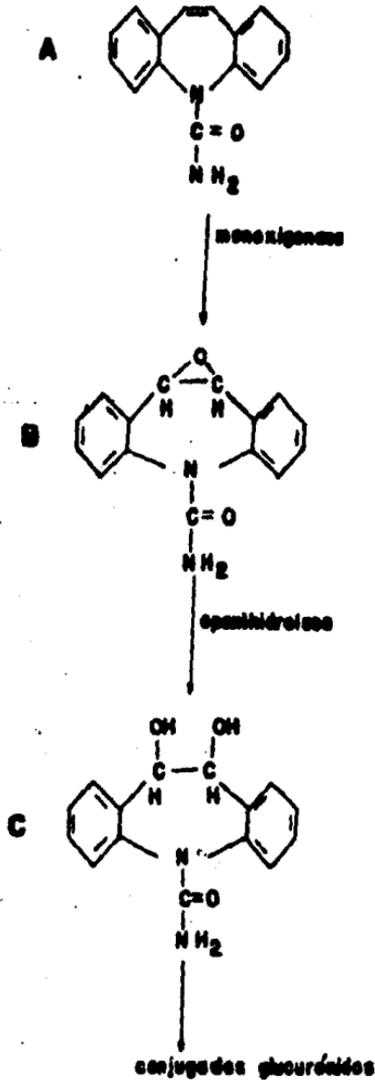
Es interesante destacar la ausencia de una competición significativa por los sitios de unión en las proteínas plasmáticas entre la CBZ y otros fármacos antiepilépticos y la aspirina, aún a concentraciones relativamente elevadas (Hooper, 1975; Hvidberg, 1976).

La CBZ cruza la placenta. La sangre umbilical de los recién nacidos de madres que reciben éste fármaco contienen niveles de CBZ aproximadamente iguales a los de la sangre materna (Kutt, 1978; Martindale, 1982).

2.4.4. Metabolismo.

La CBZ es metabolizada extensamente en el sistema microsomal hepático, sin embargo, no hay efecto de primer paso porque su cociente de extracción hepático es muy bajo (Levy, 1975; Neuvonen, 1987). La vía metabólica predominante en el hombre es oxidativa y comprende la epoxidación del doble enlace dando lugar al 10, 11, epóxido de CBZ (ECBZ) considerado como el principal metabolito. Este producto es hidratado a trans 10, 11-dihidróxido de CBZ el cual finalmente es eliminado en la orina ya sea libre o conjugado (Fig.2.2.). Presumiblemente se forma la 9 -hidroxi-CBZ a partir del epóxido o a partir del trans-diol, para ser eliminado por vía renal en su forma conjugada como glucurónido (Kutt, 1978; Tomson, 1983; Tomson, 1984).

En animales de laboratorio una parte muy pequeña de la CBZ es metabolizada a iminoestilbeno, que se obtiene por eliminación del grupo carbamilo. Esta reacción también se lleva a cabo a altas temperaturas en cromatografía de gases por lo que se presentan dificultades al cuantificar CBZ por éste método (Kutt, 1978).



A = CBZ

B = 10,11-epóxido de CBZ

C = 10,11-dihidrodiol de CBZ

Tomado de Kull, 1978.

Fig.22 METABOLITOS DE LA CARBAMAZEPINA EN EL HUMANO.

Se han aislado y caracterizado 33 metabolitos de la CBZ los cuales no presentan actividad terapéutica. En diversos animales se ha demostrado que solamente el metabolito 10, 11-epóxido posee actividad farmacológica similar o igual a la del fármaco original, aunque en el hombre esta contribución al efecto farmacológico no está totalmente confirmada. Experimentos realizados en el mono ardilla han concluido que debido a la baja solubilidad del 10, 11-epóxido en lípidos, éste penetra al cerebro en una proporción mucho menor que la de la CBZ (Rane, 1976; Westenberg, 1978; Tomson, 1983; Furlanut, 1985).

La CBZ induce su propio metabolismo durante la administración crónica de la misma; esto es evidente por la disminución de los niveles plasmáticos y del tiempo de vida media tanto en animales de laboratorio como en el hombre. Otros fármacos antiepilépticos tales como la fenitofina, el fenobarbital, y la primidona producen un aumento del metabolismo de la CBZ cuando son administrados conjuntamente con este fármaco (Eichelbaum, 1979; McNamara, 1979; Bertilsson, 1980).

La vía metabólica predominantemente inducida durante los tratamientos crónicos es la formación del trans-diol y de la 9-hidroxi CBZ (Eichelbaum, 1979).

2.4.5. Eliminación.

La farmacocinética de la CBZ puede describirse de acuerdo a un modelo abierto de un compartimiento (MAUC), con una cinética de eliminación de primer orden.

Su principal vía de eliminación es la orina y en menor proporción se elimina por las heces y por la saliva. Con el empleo de ¹⁴C-CBZ se ha encontrado que aproximadamente el 72% de la dosis administrada se elimina por orina, mientras que la radiactividad restante corresponde al fármaco eliminado en las heces (Westenberg, 1978; Eichelbaum, 1979).

Se han reportado los siguientes recobros de los principales metabolitos en orina a partir de la dosis inicial administrada:

32 a 61% como trans-diol, 5.2 a 8.8% como 9-hidroxi-CBZ, 1 a 1.4% de ECBZ y 0.5% de CBZ (Eichelbaum, 1979; Tomson, 1984).

La vida media de eliminación plasmática alcanza valores del orden de 30 a 50 horas (37 horas en promedio) cuando se administra una dosis única a voluntarios sanos; pero durante el tratamiento prolongado la inducción de las

enzimas metabólicas de este fármaco reduce su tiempo de vida media hasta 20 horas en promedio. Se ha observado que la disminución del tiempo de vida media es más notable en pacientes que reciben una terapia combinada con otros fármacos antiepilépticos que en aquéllos a quienes sólo se les administra la CBZ (Gerardin, 1976; McNamara, 1979).

La vida media del epóxido es más corta que la del fármaco original y varía de 5 a 10 horas en promedio (Kutt, 1978; Tomson, 1983).

En algunos reportes el perfil farmacocinético de la CBZ apoya decididamente la existencia de recirculación enterohepática debido posiblemente a su excreción por la bilis y su posterior reabsorción a partir del intestino (Pynnonen, 1978).

En la Tabla II.1 se resumen algunos parámetros farmacocinéticos reportados en la literatura.

2.5. DISOLUCION.

La prueba de disolución, considerada como uno de los ensayos "in vitro" de mayor utilidad en la predicción de la calidad de una forma farmacéutica, todavía no ha sido establecida de manera oficial para las tabletas de CBZ. Como se mencionó con anterioridad este fármaco se caracteriza por su baja solubilidad en agua, por presentar polimorfismo y por la presencia de cristales anhidros y dihidratados en sus formulaciones farmacéuticas. En consecuencia existen pocos reportes en la literatura científica sobre el desarrollo de una metodología adecuada para una prueba de disolución destinada a las tabletas de CBZ.

Kahela (1983) y Laine (1984) estudiaron la velocidad de disolución de cristales anhidros y cristales dihidratados. Para este fin emplearon un aparato de disolución de flujo continuo, con una velocidad de flujo de 16 ml/min y utilizando como medio de disolución HCl 0.1N añadido de 0.01% de polisorbato o sin él. La adición de este último fue con el objeto de estudiar el efecto del agente humectante en el desarrollo de los cristales dihidratados de la CBZ. La velocidad de disolución más rápida se obtuvo para los cristales anhidros cuando se empleó el polisorbato en el medio. En cambio cuando el medio de disolución consistía únicamente de la solución ácida, los cristales dihidratados mayor velocidad de disolución.

En otro trabajo se aplicó una prueba de disolución a cinco lotes diferentes de tabletas de CBZ para obtener sus per-

Tabla 11.1. PARAMETROS FARMACOCINETICOS REPORTADOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE TABLETAS DE CARBAMAZEPINA

Dosis (mg)	Ka (h ⁻¹)	t _{max} (h)	C _{max} ug/ml	t 1/2 (h)	F (%)	Referencia bibliográfica
400	0.31 - 0.76	2 - 12	3.3 - 5.4	26 - 53	77 - 157	Levy, 1975
600	-	12.5	4.55	30.5	-	Gérardin, 1976
-	-	4 - 8	-	30 - 60	> 70	Hvidbergg, 1976
-	-	6 - 18	-	30 - 60	> 70	Kutt, 1978
400	0.39 - 1.63	3 - 7.5	3.4 - 6.3	29 - 49	> 95	Pynnönen, 1978
200	-	-	-	37 - 39	102 - 110	Kaneniwa, 1984
400	-	4 - 32	3.24	35	-	Chan, 1985
400	-	4 - 12	3.8 - 4.3	32 - 43	-	Graves, 1985
400	0.27 - 1.73	2 - 15	4.7 - 7.8	28 - 38	> 95	Neuvonen, 1985
-	-	4 - 8	6.0	36 + 5	> 70	Rall, 1985

Ka = constante de velocidad de absorción.
 t_{max} = tiempo para alcanzar la C_{max}.
 C_{max} = concentración plasmática máxima.
 t_{1/2} = tiempo de vida media.
 F = biodisponibilidad relativa.

files de disolución. La metodología de disolución aplicada consistió en el empleo del aparato de canastillas de la USP a 100 rpm y con 1 litro de HCl 0.1N. Al efectuar el estudio "in vivo" se obtuvieron las concentraciones plasmáticas del fármaco después de la administración de las tabletas correspondientes a las mismas formulaciones incluidas en el estudio "in vitro". En el análisis de las gráficas trazadas se demuestra que existe una correlación entre la concentración plasmática y el porcentaje disuelto en el intervalo de 0 a 1 hora; sin embargo los autores no efectuaron el cálculo de diferentes parámetros "in vitro" e "in vivo" para obtener una correlación más significativa (Neuvonen, 1985).

Kananiwa (1984) encontró una correlación "in vitro - in vivo" para las tabletas de CBZ cuando empleó fluido gástrico como medio de disolución en un recipiente cilíndrico de 2 litros de volumen, con una agitación de 100 rpm, y paletas como método de agitación. En este reporte se encontró correlación entre el tiempo requerido para disolver el 30, 50, 60 y 80% del principio activo de las tabletas, con su constante de velocidad de absorción; así como entre el tiempo medio de disolución y la constante de absorción.

2.6. BIODISPONIBILIDAD.

Como ya se ha señalado, la biodisponibilidad absoluta de la CBZ no está reportada debido a que no puede administrarse por vía intravenosa. Uno de los primeros trabajos encaminados a determinar la biodisponibilidad de las tabletas de CBZ es el de Levy (1975), en el que se compara la biodisponibilidad de tabletas comerciales administradas en presencia de alimento o sin él. Aunque la presencia de alimento mejoró la biodisponibilidad con respecto a la obtenida en ayunas, esta diferencia no fue significativa.

Simultáneamente en 1975 Morselli reportó la biodisponibilidad de la CBZ en tabletas o en suspensión administradas a pacientes epilépticos. A diferencia del trabajo anterior no se obtuvieron diferencias significativas entre formulaciones ni entre pacientes en los niveles del estado estacionario.

Existen reportes en la literatura internacional en los que se indica que durante la terapia crónica, el cambiar de una marca comercial a otra puede producir diferentes perfiles en la concentración del fármaco o bien aumentarse la frecuencia de crisis convulsivas (Sachdeo, 1987). Así, en algunos estudios, la magnitud de la absorción total ha sido similar, pero la velocidad de absorción y el tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima han mostrado diferencias significativas cuando se comparan diferentes productos (Neuvonen, 1985). De ello se desprende también

que existe una correlación entre efectos colaterales y la biodisponibilidad de CBZ, por lo que se prefiere recurrir a formulaciones de absorción lenta ya que sus biodisponibilidades son equivalentes a las de absorción rápida (Pynnonen, 1978; Neuvonen, 1985).

En general se ha reportado que después de la administración de tabletas de CBZ la biodisponibilidad alcanzada es frecuentemente mayor al 70% (Levy, 1975; Kutt, 1978; Rall, 1985).

Se ha registrado un especial interés por determinar la biodisponibilidad de suspensiones de CBZ por vía rectal en pacientes comatosos. Graves (1985) y Neuvonen (1987) no encontraron diferencias significativas en el área bajo la curva de la suspensión rectal al compararla con el área bajo la curva de la suspensión y de las tabletas orales.

Con el desarrollo de nuevas formulaciones, se ha estudiado la biodisponibilidad de tabletas masticables de CBZ destinadas a aquellos pacientes que presentan dificultades para tragar las tabletas convencionales. Chan (1985) demostró que ambas formulaciones fueron bioequivalentes.

Venno (1986) recomienda efectuar estudios de biodisponibilidad en conejos dado que sus resultados concuerdan con los de Pynnonen (1978) y Neuvonen (1985), quienes determinaron la biodisponibilidad de las mismas formulaciones de CBZ en humanos en sus respectivas investigaciones.

2.6.1. Presentación farmacéutica.

En el mercado nacional puede adquirirse la CBZ ya sea como tabletas de 200 y 400 mg, o como suspensión oral en la que 5 ml contienen 100 mg de principio activo. La suspensión está endulzada con sorbitol y no contiene azúcar (Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, 1986).

En el Cuadro Básico de Medicamentos del Sector Salud la clave 2608 corresponde a las tabletas de 200 mg, y la 2609 a la suspensión bucal (Cuadro Básico de Medicamentos del Sector Salud, 1984).

2.7. METODOS ANALITICOS PARA DETERMINAR LA CARBAMAZEPINA EN FLUIDOS BIOLÓGICOS.

Se ha desarrollado una gran variedad de métodos analíticos para la cuantificación de CBZ y otros agentes anticonvulsivos en fluidos biológicos, entre los que se citan: espectrofotometría, fluorometría, inmunoanálisis, cromatografía de gases y cromatografía de líquidos de alta resolución (Sadee, 1980; Florey, 1980;

Kunn, 1982). Sin embargo la cuantificación simultánea de CBZ y su epóxido (ECBZ) es posible solamente recurriendo a técnicas cromatográficas tales como cromatografía de gases o cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). Desafortunadamente los métodos por cromatografía de gases tienden a producir resultados variables debido a la baja estabilidad de la CBZ y del ECBZ a las altas temperaturas requeridas, y a su conversión parcial a iminostilbena y otros derivados acrílicos. Por tal motivo sería necesario formar derivados más volátiles, lo que implicaría procedimientos más largos y tediosos. De ésta manera, la presencia de un metabolito activo y la inestabilidad termoquímica de la CBZ hacen de la CLAR el método analítico de elección para aplicaciones biofarmacéuticas (Sadée, 1980; Burke, 1985; Hartley, 1986).

Numerosos métodos por CLAR ofrecen la conveniencia de aplicarse para la cuantificación simultánea de CBZ y otros fármacos antiepilépticos, y algunos de sus metabolitos (Adams, 1978; Szabo, 1982; Wad, 1984). Indudablemente que existen numerosos reportes por CLAR que cuantifican exclusivamente CBZ y ECBZ en sangre total, plasma o saliva; sin embargo muchos de ellos poseen ciertas desventajas en lo que se refiere al gran volumen de muestra requerida (Eichelbaum, 1975; Westenberg, 1975; Kabre, 1976); largo procedimiento de extracción (McKichan, 1980) y pérdida de sensibilidad en la detección del ECBZ (Eichelbaum, 1975; Westenberg, 1976; McKichan, 1980).

La extracción de la CBZ y del ECBZ se efectúa en la mayoría de los métodos con diclorometano, una vez que se ha alcalinizado el fluido biológico (Eichelbaum, 1975; Westenberg, 1975; Elyas, 1982; Chan, 1985); y en otros métodos la extracción se realiza con cloroformo (McKichan, 1980; Sawchuk, 1982). Astier (1979) no efectúa manipulación de la muestra plasmática y únicamente señala la adición del estándar interno disuelto en acetonitrilo. Recientemente Hartley (1986) propone un método rápido de extracción sólido-líquido, empleando cartuchos de octadecilsilano de fase inversa que se encuentran comercialmente disponibles.

De todos éstos métodos, el porcentaje de recobro más bajo corresponde al método de Eichelbaum (1975), cuyo valor está en el orden de 87 a 93%.

Los métodos señalados recurren a la separación cromatográfica de la CBZ y del ECBZ por fase inversa debido al carácter iónico de la primera; como fase móvil la mayoría emplea mezclas de acetonitrilo:agua en diferentes proporciones.

El estándar interno más utilizado por poseer características fisicoquímicas similares a la CBZ es el nitrazepam, y en otras ocasiones el clonazepam, que es también un agente anticonvulsivo y que comparte propiedades fisicoquímicas con la CBZ (Lewis, 1981).

Como lo indica Elyas (1982) la baja absorbancia del ECBZ en el espectro UV ha sido un problema en su cuantificación por

CLAR, pero esto se supera seleccionando una longitud de onda óptima a 215 nm para la detección simultánea de CBZ y ECBZ.

De alguna manera u otra los métodos por CLAR mencionados prometen cubrir en buena medida todos los criterios de validación requeridos para la cuantificación de CBZ y de su metabolito.

Capítulo 3. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1. SELECCION DE PRODUCTOS.

Se estudiaron 11 lotes de tabletas de CBZ conteniendo 200 mg de principio activo. 10 lotes fueron fabricados por cuatro empresas proveedoras del Instituto Mexicano del Seguro Social y se seleccionaron al azar de los almacenes centrales de la Institución, y un lote correspondiente al producto innovador (Laboratorio Ciba Geigy) se adquirió en una farmacia de venta al público en EUA. Los lotes fueron marcados como se señala en la Tabla III.1.

Tabla III.1. LOTES DE TABLETAS DE CBZ ESTUDIADOS Y SUS RESPECTIVAS CLAVES.

Laboratorio	Lote
1	A
2	B
2	C
3	D
4	E
4	F
4	G
4	H
4	I
3	J
5	K *

* K = Producto innovador.

3.2. PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD.

Para realizar el estudio de disolución y de biodisponibilidad se determinó previamente si los productos cumplan con las especificaciones de control de calidad indicadas en la Norma IMSS correspondiente a las tabletas de CBZ (Norma IMSS, 1982), cuyo contenido se encuentra en el Apéndice I.

Las pruebas a las que se sometieron cada uno de los productos fueron:

- a) Ensayos de identidad.
- b) Variación de peso.
- c) Tiempo de desintegración.
- d) Valoración del principio activo.

3.2.1. ENSAYOS DE IDENTIDAD.

Se procedió como lo indica la Norma IHSS en su sección 5.1. en lo que se refiere a Espectro infrarrojo e Identidad y sustancias relacionadas.

3.2.2. VARIACION DE PESO.

Pesar con precisión 20 tabletas individualmente y calcular el peso promedio. Del resultado obtenido en la Valoración del principio activo realizada como se indica en el Apéndice 1, calcular el contenido del principio activo en cada una de las 20 tabletas.

Los resultados de la prueba son satisfactorios si, la cantidad de principio activo en cada una de las 20 tabletas se encuentra en el rango del 85 al 115% y si la desviación estándar relativa es igual o menor del 6% (USP XXI, 1985).

3.2.3. TIEMPO DE DESINTEGRACION.

La prueba se realizó bajo dos procedimientos diferentes.

3.2.3.1. Procedimiento A: Colocar una tableta en cada uno de los 6 tubos de la canasta y poner un disco en cada uno. Empleando jugo gástrico simulado a $37^{\circ} \text{C} \pm 2$ como líquido de inmersión, las tabletas deben desintegrarse en menos de 5 minutos. Si una o dos de ellas no se han desintegrado completamente, repetir la prueba con 12 muestras adicionales y no menos de 16 de las 18 tabletas deben desintegrarse completamente (USP XXI, 1985).

3.2.3.1.1. Preparación del jugo gástrico simulado.

Disolver 2 g de NaCl y 3.2 g de pepsina en 7 ml de HCl y suficiente agua para completar 1000 ml. Ajustar a pH 1.2.

3.2.3.2. Procedimiento B: Se efectuó como en 3.2.3.1 pero utilizando agua destilada como medio de inmersión y omitiendo el uso de discos. Se especifica que las tabletas se deben desintegrar en menos de 3 minutos (Supl.1, USP XXI, 1986).

El lote J no se analizó bajo ninguno de los dos procedimientos por no contar con suficientes tabletas.

3.2.4. VALORACION DEL PRINCIPIO ACTIVO.

Conforme lo indica el Apéndice 1.

3.3. ESTUDIO " in vitro ".

3.3.1. ESTUDIO DE DISOLUCION.

Para el estudio de disolución se ensayaron cuatro metodologías de disolución diferentes. cuyas características se resumen en la Tabla III.2.

3.3.1.1. APARATOS.

- Disolutor Hanson Research modelo QC-72-RLB (Aparato USP).
- Espectrofotómetro Beckman UV modelo DU-7.
- Potenciómetro Orion Research modelo 701-A.
- Balanza analítica Mettler modelo AE160.
- Balanza electrónica Perkin Elmer modelo AD2Z.

3.3.1.2. REACTIVOS Y SOLUCIONES.

- Carbamazepina, estándar secundario con 98.04% de pureza.
- Etanol absoluto R.A. (J. T. Baker).
- Acido clorhídrico R.A. (J. T. Baker).
- Cloruro de sodio R.A. (Merck).
- Fosfato de potasio monobásico R.A. (J. T. Baker)
- Lauril sulfato de sodio R.A. (Sigma)
- Agua destilada.
- Solución de NaOH 0.2 N. (Hidróxido de sodio R.A. Merck).

3.3.1.3. PREPARACION DE LOS MEDIOS DE DISOLUCION.

3.3.1.3.1. Medio de disolución I (HCl 0.1N pH= 1.0):

Medir 8.5 ml de HCl y aforar con agua destilada hasta 1000 ml. El pH de esta solución se ajusta a 1 con NaOH 0.2 N.

3.3.1.3.2. Medio de disolución II (fluido gástrico simulado sin enzima, pH 1.2):

Disolver 2 g de NaCl en 7 ml de HCl y agregar suficiente agua para completar 1000 ml. Ajustar a pH 1.2 con NaOH 0.2 N.

3.3.1.3.3. Medio de disolución III (fluido intestinal simulado sin enzima, pH 7.5):

Disolver 6.8 g de fosfato monobásico de potasio en 250 ml de agua y añadir 190 ml de NaOH 0.2N y 400 ml de agua. Ajustar a pH 7.5 \pm 0.1 con NaOH 0.2N y diluir con agua a 1000 ml (USP XXI, 1985).

Tabla III.2. METODOLOGIAS DE DISOLUCION APLICADAS A TABLETAS DE CARBAMAZEPINA DE 200 mg.

Condiciones	Método I	Método II	Método III	Método IV
Aparato USP	Canastillas	Paletas	Paletas	Paletas
Medio de disolución	HCl 0.1 N, pH 1.0	Fluido gástrico simulado - s/enzima, pH 1.2	Fluido intestinal simulado - s/enzima, pH 7.5	Lauril sulfato de sodio al 1% (p/v)
Volúmen (ml)	900	900	900	900
Velocidad de agitación (rpm)	100	50	75	75
Temperatura (°C)	37 ± 0.5	37 ± 0.5	37 ± 0.5	37 ± 0.5
Tiempos de muestreo (min.)	5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120	5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120	5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120	5, 15, 30, 45, 60, 90 y 120
Referencia bibliográfica	Neuvonen, 1985	La Marca, 1984	La Marca, 1984	Datos no publicados, 1987

3.3.1.3.4. Medio de disolución IV (Solución al 1% de lauril sulfato de sodio):

Disolver lentamente 1 g de lauril sulfato de sodio en 500 ml de agua previamente degasificada y aforar a 1000 ml con agua destilada.

3.3.2. PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION.

3.3.2.1. Solución A: Se pesaron 11.11 mg de estándar de CBZ y se disolvieron en 1 ml de etanol. Posteriormente se aforó a 25 ml con medio de disolución. Cada mililitro de esta solución contiene 444.4 ug de CBZ.

La curva de calibración se preparó transfiriendo alícuotas de la solución A a matraces volumétricos de 100 ml, y aforando con medio de disolución (Tabla III.3).

Tabla III.3. PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION DE CBZ EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE DISOLUCION

Punto	Alícuotas de solución A (ml)	Concentración final de CBZ (ug/ml)
1	0.5	2.222
2	1.0	4.444
3	2.0	8.888
4	3.0	13.333
5	4.0	17.777
6	5.0	22.222

3.3.3. EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO.

El método analítico utilizado para cuantificar la CBZ fue directamente al espectrofotómetro a una longitud de onda de 285 nm para los métodos de disolución I, II y III y de 287 nm para el método IV previa dilución de las muestras. Estas longitudes de onda fueron las longitudes de máxima absorción encontradas.

Cada método fue evaluado en lo que se refiere a linealidad y repetibilidad.

3.3.3.1. LINEALIDAD.

En cada uno de los medios de disolución se prepararon cinco curvas de calibración en el rango de concentraciones especificado en la Tabla III.3. El estándar de CBZ fue secado previamente a 150 °C durante 2 horas (USP XXI, 1985).

La linealidad de los métodos se obtuvo a partir del cálculo de las pendientes, los interceptos y los coeficientes de correlación.

3.3.3.2. REPETIBILIDAD.

Con el fin de determinar si el método era repetible bajo las mismas condiciones de analista, aparato y laboratorio en diferentes días se determinó el coeficiente de variación para cada una de las concentraciones preparadas. Para este propósito se elaboraron cinco curvas de calibración en los cuatro medios de disolución diferentes.

3.3.4. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS Y PERFILES DE DISOLUCIÓN.

Se realizó el estudio de disolución con los métodos propuestos utilizando para cada uno de ellos 6 tabletas de cada producto y tomando 3 ml de muestra filtrada a los diferentes tiempos especificados en la Tabla III.2. El volumen inicial se recuperó añadiendo medio de disolución mantenido a 37 ° C. De las muestras filtradas se midieron alícuotas de 2 ml y se aforaron a 25 ml con medio de disolución para su lectura en el espectrofotómetro. Conocida la absorbancia, se obtuvo la concentración de las muestras al interpolar los valores obtenidos contra una curva patrón preparada el mismo día del ensayo.

3.4. ESTUDIO "in vivo".

3.4.1. DETERMINACION DE CBZ EN PLASMA.

El método analítico utilizado para cuantificar CBZ en plasma fue el método de CLAR propuesto por Chan (1985) con ligeras modificaciones.

3.4.1.1. APARATOS.

- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución Waters consistente en:
 - . Bomba de flujo continuo modelo 590.
 - . Inyector automático WISP modelo 710 B.
 - . Detector UV de longitud de onda variable modelo 450.
 - . Integrador Data Module Modelo 730.
- Precolumna empacada con u Bondapak C18.
- Columna de 30 cm LiChrosorb RP-8 (10 μ m) No. 711313 (Hibar, Merck).
- Vortex
- Balanza electrónica Perkin Elmer modelo AD2Z.
- Agitador mecánico.
- Centrifuga Beckman modelo TJ-6.
- Baño ultrasónico marca Mettler modelo ME5.5
- Micropipetas.

3.4.1.2. REACTIVOS.

- Estándares primarios de:
 - . Carbamazepina (USP).
 - . 10, 11- epóxido de CBZ (USP).
 - . Clonazepam (USP).
- Acetonitrilo grado CLAR (Baker)
- Metanol grado CLAR (Baker)
- Solución 5M de NaOH (Hidróxido de sodio R.A. (Merck).
- Diclorometano R.A. (Merck)
- Eter etílico R.A. (Baker)
- Agua destilada.

Los disolventes fueron debidamente filtrados y degasificados antes de emplearlos en el cromatógrafo.

3.4.1.3. CONDICIONES DE OPERACION DEL CROMATOGRAFO DE LIQUIDOS

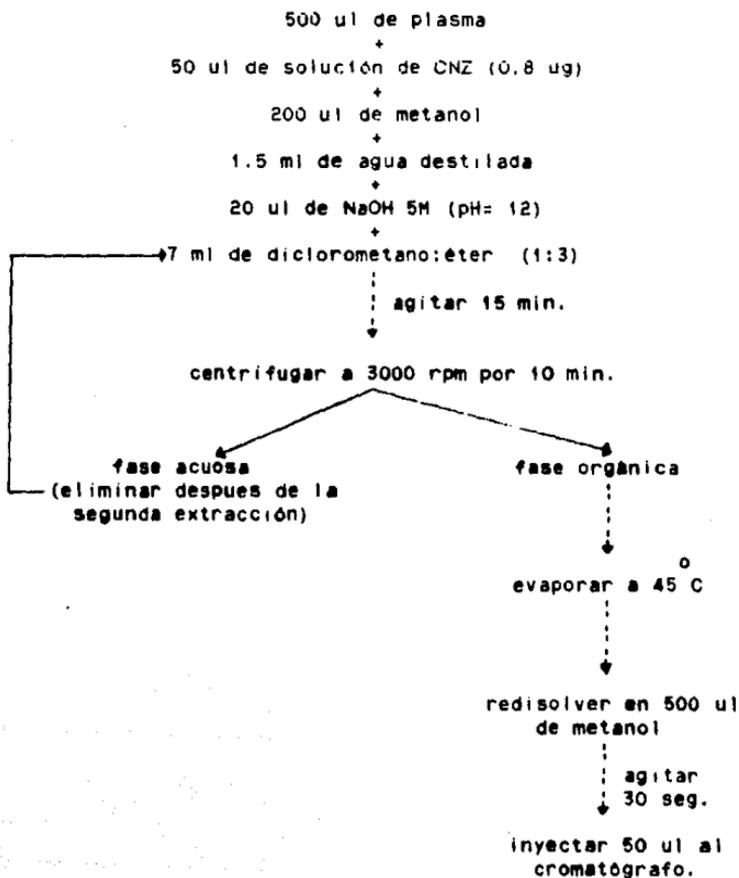
- Columna LiChrosorb RP-8 (10 μ m) de 30 cm de longitud.
- Fase móvil: acetonitrilo:agua (40:60)

- Velocidad de flujo: 1 ml/min.
- Volúmen de inyección: 50 ul.
- Longitud de onda: 215 nm.
- Tiempo de corrida: 14 minutos.
- Estándar interno: Clonazepam (CNZ).

3.4.1.4. EXTRACCIÓN DE LA CBZ EN PLASMA.

En un tubo de ensaye con tapón de rosca se colocan 500 ul de plasma y 50 ul de la solución del estándar interno cuya concentración es de 16 ug/ml. Se añaden 200 ul de metanol y 1.5 ml de agua destilada. La mezcla se agita en vortex y se agregan 20 ul de la solución de NaOH 5M con el objeto de obtener un pH de 12. Se efectúan dos extracciones sucesivas con 7 ml de una mezcla de diclorometano:éter en proporción 1:3. Se agita vigorosa y uniformemente durante 15 minutos en agitador mecánico y se centrifuga a 3000 rpm durante 10 minutos. Se separa y combina la fase orgánica de las dos extracciones en un tubo de ensaye perfectamente limpio. Se evapora a sequedad en baño de agua a 45 ° C para finalmente redissolver en 500 ul de metanol agitando en vortex durante 30 segundos. Por último se coloca este volúmen en los viales destinados para cromatografía (Fig. 3.1).

Fig. 3.1. ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE LA CBZ Y SU METABOLITO EN PLASMA.



3.4.2. PREPARACION DE SOLUCIONES ESTANDAR EN PLASMA.

3.4.2.1. Solución A de Carbanazepina (CBZ).

Se pesan 10 mg del estándar de CBZ y se disuelven y aforan a 10 ml con metanol. De esta solución se toma una alícuota de 5 ml para finalmente aforar con agua a 50ml. Esta solución tiene una concentración de 100 ug/ml.

3.4.2.2. Solución B de 10, 11-epóxido de CBZ (ECBZ).

12.5 mg de estándar de ECBZ se disuelven y aforan a 10 ml con metanol para de ahí tomar 2 ml y llevarlos a un volumen final de 100 ml con agua. La concentración final es de 25 ug/ml.

3.4.2.3. Solución C de cifenazepam (CNZ).

Se pesan 8 mg de CNZ y se disuelven y aforan a 10 ml con metanol. Se Diluyen 2 ml de ésta solución a 100 ml con agua. Cada mililitro contiene 16 ug de CNZ.

A partir de las soluciones de estándares se efectuaron las diluciones adecuadas en plasma para obtener las curvas de calibración necesarias (Tabla III.4).

Tabla III.4. CONCENTRACION DE ESTANDARES PARA LAS CURVAS DE CALIBRACION EN PLASMA.

Punto No.	Conc. (ug/ml)		
	ECBZ	CBZ	CNZ
1	0.00	0.0	0.0
2	0.05	0.2	0.8
3	0.10	0.5	0.8
4	0.20	1.0	0.8
5	0.50	2.0	0.8
6	0.60	3.0	0.8
7	0.80	5.0	0.8
8	1.60	10.0	0.8

3.4.3. EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO.

Con la finalidad de contar con un método analítico confiable, se evaluaron los parámetros de linealidad, repetibilidad, exactitud, selectividad y estabilidad.

3.4.3.1. LINEALIDAD.

Para determinar si la relación de alturas y la concentración del ECBZ y de la CBZ con respecto a la concentración de CNZ tenía un comportamiento lineal, se prepararon 5 curvas patrón en plasma libre de fármacos a las concentraciones indicadas y se sometieron al proceso esquematizado en la figura 3.1. De esta manera se calculó el coeficiente de correlación, la pendiente y el intercepto de los datos de concentración contra la relación de alturas.

3.4.3.2. REPETIBILIDAD

Se evaluó la repetibilidad del método en un mismo día preparando 6 réplicas en plasma de los puntos comprendidos en el intervalo de concentración de 0.1 a 1.6 ug/ml para el ECBZ, y de 0.5 a 10 ug/ml para la CBZ. Se calculó la repetibilidad determinando la desviación estándar relativa para cada punto considerado.

3.4.3.3. EXACTITUD.

La estimación de este parámetro se realizó comparando el porcentaje de recobro de 5 curvas de calibración preparadas en plasma en relación a 5 curvas patrón de estándares preparadas en solvente. De esta manera se relacionaron los datos de la cantidad de fármaco adicionada con los datos obtenidos de la cantidad recuperada.

3.4.3.4. SELECTIVIDAD.

En la evaluación de la selectividad se compararon los cromatogramas obtenidos con:

- . mezcla de estándares en disolvente.
- . plasma libre de fármacos (blanco).
- . muestra plasmática conteniendo los 3 estándares.
- . muestra problema de un voluntario a la que se añadió estándar interno.

3.4.3.5. ESTABILIDAD.

A lo largo de 120 días se estudió la estabilidad del fármaco en el plasma. Para ello se preparó suficiente muestra en plasma conteniendo 0.2 ug/ml de ECBZ y 1.0 ug/ml de CBZ y se separaron fracciones de 0.5 ml en tubos perfectamente tapados para posteriormente mantenerlas en congelación a -4 C y analizarlas periódicamente. Las muestras fueron analizadas a los 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 y 120 días comparando cada vez con una

muestra recién preparada de igual concentración para así determinar el nivel de degradación del fármaco en plasma durante el período de almacenamiento.

3.4.4. ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD RELATIVA.

3.4.4.1. PRODUCTOS SELECCIONADOS.

De acuerdo a los resultados del estudio de disolución se seleccionaron para el estudio "in vivo" 3 productos de carbamazepina. Las formulaciones elegidas se caracterizaron por presentar marcadas diferencias en su disolución. De ésta manera se estudiaron los lotes

A, C, J y K.

Como patrón de referencia se utilizó el producto innovador marcado como lote K.

3.4.4.2. SELECCION DE VOLUNTARIOS.

En el estudio participaron 8 voluntarios adultos sanos del sexo masculino entre 18 y 35 años de edad y peso corporal de 60 a 75 Kg. El criterio de salud para incluir a los individuos fue mediante historia clínica, exploración física y análisis clínicos. Los voluntarios fueron informados claramente de la naturaleza y fines del estudio y de los efectos secundarios del medicamento así como de las indicaciones que deberían observar durante el mismo. Los participantes firmaron una hoja de consentimiento (Apéndice II).

3.4.4.3. DISEÑO.

La asignación de voluntarios en los cuatro grupos formados se efectuó de manera aleatoria. La administración de los diferentes productos en los cuatro períodos se realizó de acuerdo a un diseño de cuadrado latino de 4x4 vías (Tabla III.5).

Tabla III.5. DISEÑO ESTADÍSTICO EMPLEADO EN EL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD DE TABLETAS DE CBZ.

Grupo	Voluntario	Semana			
		1	2	3	4
I	1 y 2	K	C	A	J
II	3 y 4	C	A	J	K
III	5 y 6	A	J	K	C
IV	7 y 8	J	K	C	A

3.4.4.4. PROTOCOLO EXPERIMENTAL.

Los voluntarios siguieron el protocolo que a continuación se señala.

1.- Se administró una dosis en ayunas a cada voluntario consistente en dos tabletas de 200 mg de CBZ cada una, con 200 ml de agua aproximadamente.

2.- La ingesta de alimentos consistente en desayuno ligero, comida y refrigerio con agua "ad libitum", se efectuó a las 4, 8 y 12 horas respectivamente después de la administración del medicamento.

3.- Se solicitó a los voluntarios evitar consumir otro tipo de alimentos durante las primeras 12 horas, así como abstenerse de fumar, ingerir bebidas alcohólicas y recibir cualquier tipo de medicación durante el tiempo de estudio y una semana antes de iniciarse éste.

4.- Se obtuvieron 7 ml de sangre venosa mediante la colocación de un catéter del tipo "Punzocat" número 18. Después de cada toma de muestra y a fin de mantener permeable el catéter, se pasaron 0.2 ml de heparina.

5.- El horario para la toma de muestras sanguíneas fue el siguiente:

0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0,
24.0, 48.0, 72.0, 96.0 y 120.0 horas.

Entre cada periodo de estudio se consideraron dos semanas de "descanso" con el fin de asegurar la completa eliminación del fármaco administrado en el periodo anterior.

Cada muestra sanguínea fue colocada en tubos heparinizados y debidamente identificados. El plasma fue

separado por centrifugación y se conservó en congelación a -4°C hasta el momento de su análisis.

3.4.4.5. ANALISIS DE LAS MUESTRAS.

Las muestras plasmáticas fueron analizadas por duplicado elaborando también una curva de calibración por duplicado para cada voluntario.

Capítulo 4. RESULTADOS.

4.1. PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD.

En lo correspondiente a los ensayos de identidad, cada producto cumplió con las especificaciones de control de calidad indicadas en el Apéndice I.

En las Tablas IV.1 y IV.2 se presentan los resultados obtenidos en las pruebas de Variación de peso, Valoración del principio activo y Tiempo de desintegración de los 11 lotes estudiados siguiendo los lineamientos especificados en la Norma IMSS, (1982) y en el Suplemento I de la USP XXI (1985).

Tabla IV.1. RESULTADOS DE LA VARIACION DE PESO Y LA VALORACION DEL PRINCIPIO ACTIVO DE LAS TABLETAS DE CBZ.

Lote	Variación de peso (Porcentaje)	Valoración del principio activo (Porcentaje)	Interpretación
A	*98.2922 ± 4.4673 **4.5449	98.2808	cumple
B	97.5257 ± 1.3347 1.3685	97.5257	cumple
C	98.6821 ± 3.0060 3.0461	98.6664	cumple
D	106.7637 ± 1.7432 1.6327	106.6677	cumple
E	98.1157 ± 4.6253 4.7141	98.0719	cumple
F	97.6040 ± 3.6741 3.7643	97.5899	cumple
G	99.1804 ± 2.9328 2.9571	99.1805	cumple
H	106.7479 ± 3.3559 3.1437	106.7480	cumple
I	97.0164 ± 3.9319 4.0528	96.7062	cumple
J	97.7722 ± 0.5344 0.5465	97.7705	cumple
K	97.5592 ± 1.6746 1.7165	97.5593	cumple

* Porcentaje promedio ± Desviación estándar

** Desviación estándar relativa.

Tabla IV.2. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE DESINTEGRACION DE TABLETAS DE CARBAMAZEPINA.

 Tiempo de desintegración * (minutos)

Lote	USP XXI	Interpretación	Supl. I USP XXI	Interpretación
A	11.3	no cumple	8.5	no cumple
B	3.0	cumple	6.0	no cumple
C	3.0	cumple	7.5	no cumple
D	3.0	cumple	3.8	no cumple
E	0.75	cumple	0.75	cumple
F	0.75	cumple	0.50	cumple
G	2.0	cumple	3.0	cumple
H	0.75	cumple	0.5	cumple
I	2.0	cumple	3.0	cumple
J	no se efectuó		no se efectuó	
K	1.5	cumple	8.6	no cumple

* n = 18

4.2. ESTUDIO "in vitro".

4.2.1. EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE CBZ EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE DISOLUCION.

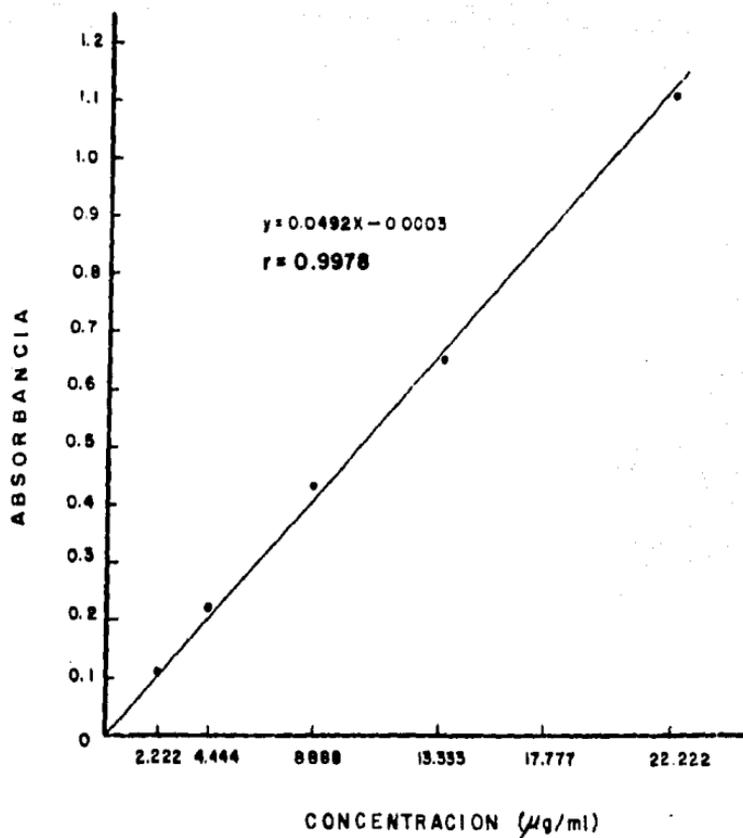
4.2.1.1. LINEALIDAD.

Mediante un análisis de regresión efectuado por el método de mínimos cuadrados se obtuvo el conjunto de parámetros estadísticos correspondientes a la evaluación de la linealidad de los cuatro metodologías de disolución, mismos que se presentan en la Tabla IV.3. En las Figuras 4.1.1 a 4.1.4 se muestra la relación lineal que presentó el método espectrofotométrico empleado para la cuantificación de la CBZ en cada uno de los medios de disolución.

Tabla IV.3. PARAMETROS ESTADISTICOS OBTENIDOS EN LA EVALUACION DE LA LINEALIDAD DE LOS CUATRO MEDIOS DE DISOLUCION EMPLEADOS.

Parámetro	Método I	Método II	Método III	Método IV
r^2	0.9956	0.9999	0.9997	0.9995
r	0.9978	0.9999	0.9998	0.9997
m	0.0492	0.0506	0.0509	0.0489
σ_m	0.0005	0.0001	0.0001	0.0002
b	-0.0003	0.0024	-0.0026	0.0033
σ_b	0.0061	0.0012	0.0018	0.0026
e	0.0236	0.0042	0.0067	0.0082
DER	1.83×10^{-1}	6.31×10^{-3}	1.59×10^{-3}	2.98×10^{-3}
n	5	5	5	5

- r^2 = coeficiente de determinación
 r = coeficiente de correlación
 m = pendiente de la recta
 σ_m = desviación estándar de la pendiente
 b = ordenada al origen
 σ_b = desviación estándar de la ordenada al origen
 e = error típico de estimación
DER = Desviación estándar relativa (%)
 n = pares de datos



**Fig. 4.1.1. CURVA PATRON DE CBZ EN HCl 0.1N,
pH = 1.0 \pm 0.05 (n=5).**

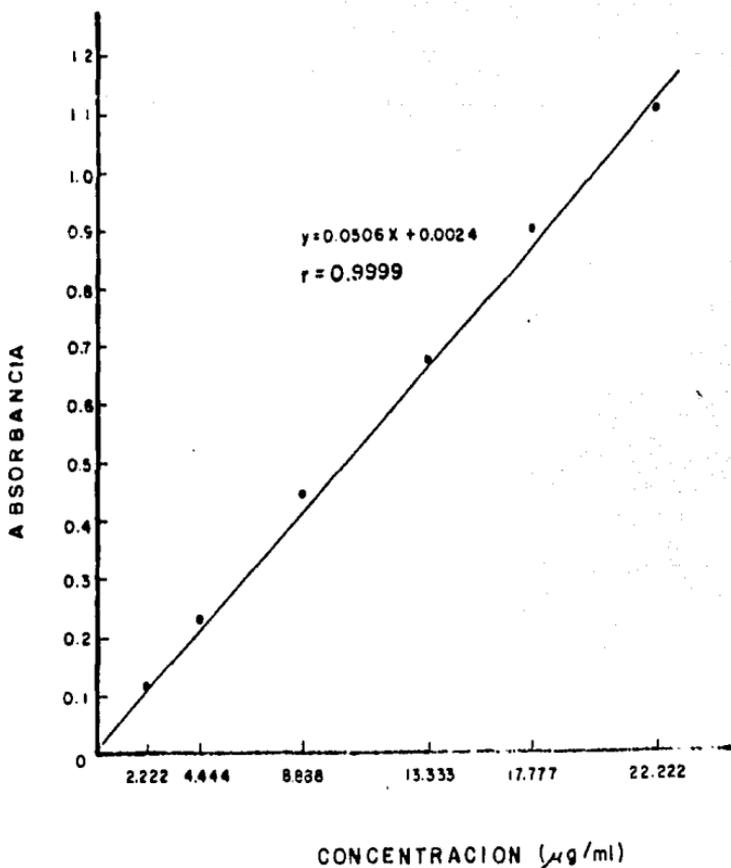


Fig. 4.1.2. CURVA PATRON DE CBZ EN FLUIDO GASTRICO SIMULADO S/ENZIMA pH=1.2 (n=5).

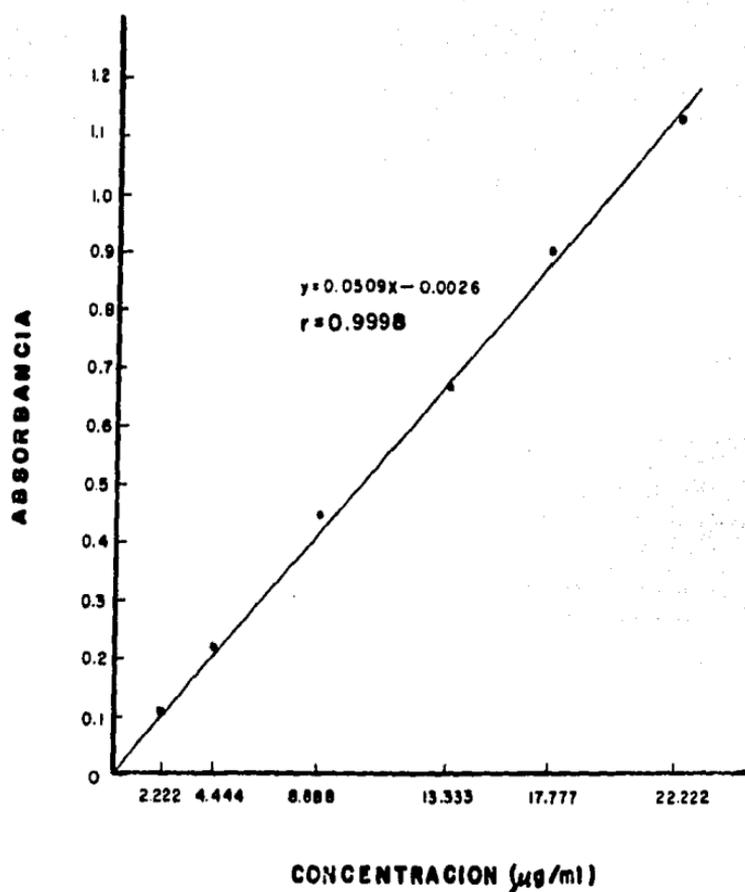


Fig. 4.1.3. CURVA PATRON DE CBZ EN FLUIDO INTES-TINAL SIMULADO S/ENZIMA pH=7.5 (n= 5).

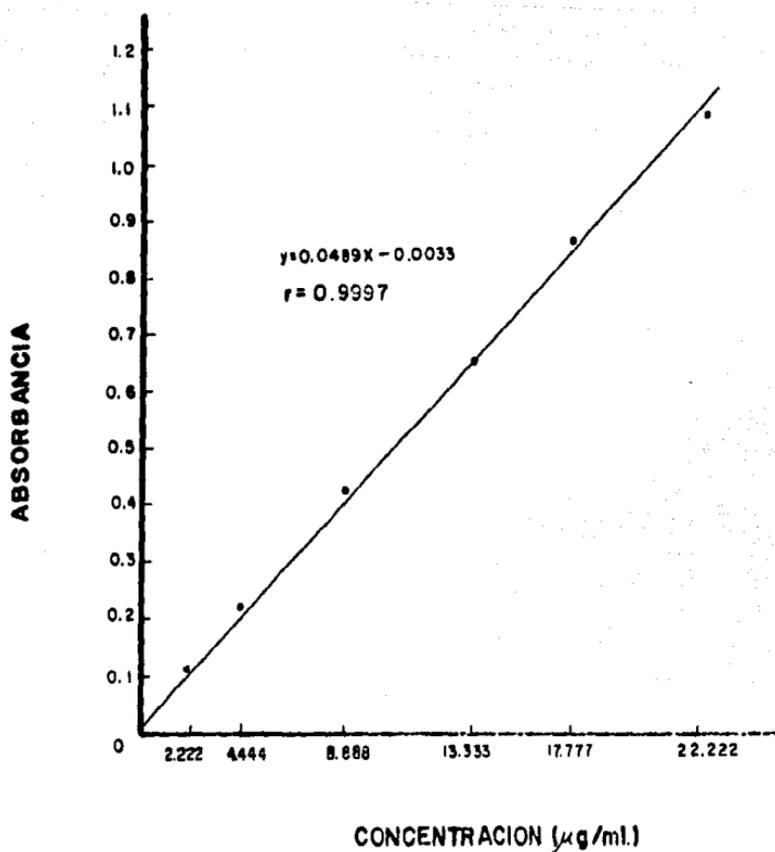


Fig. 4.14. CURVA PATRON DE CBZ EN LAURIL SULFATO DE SODIO AL 1% (p/v) (n=5).

4.2.1.2. REPETIBILIDAD

Los resultados de la evaluación de la repetibilidad del método espectrofotométrico se muestran en la Tabla IV.4.

Tabla IV.4. REPETIBILIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO PARA CUANTIFICAR CBZ EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE DISOLUCION.

		Medio de disolución I					
		Conc. (ug/ml)					
		2.2220	4.4440	8.8880	13.3330	17.7770	22.2220
A							
B		0.1173	0.2363	0.4574	0.6789	0.8939	1.1226
S		0.1179	0.2366	0.4561	0.6784	0.8944	1.1163
O		0.1174	0.2354	0.4554	0.6784	0.8930	1.1157
R		0.1153	0.2319	0.4551	0.6731	0.9024	1.1231
B		0.1149	0.2267	0.4497	0.6719	0.8957	1.1031
A							
N	\bar{x}	0.1165	0.2333	0.4547	0.6761	0.8958	1.1161
C	DE	0.0013	0.0041	0.0029	0.0033	0.0037	0.0080
I	DER	1.1662	1.7897	0.6377	0.4898	0.4228	0.7171
A							

		Medio de disolución II					
		Conc. (ug/ml)					
		2.2220	4.4440	8.8880	13.3330	17.7770	22.2220
A							
B		0.1103	0.2247	0.4484	0.6731	0.9014	1.1206
S		0.1119	0.2269	0.4534	0.6771	0.9019	1.1251
O		0.1117	0.2273	0.4553	0.6783	0.9046	1.1293
R		0.1149	0.2291	0.4546	0.6806	0.9060	1.1273
B		0.1105	0.2259	0.4497	0.6767	0.9016	1.1264
A							
N	\bar{x}	0.1118	0.2267	0.4522	0.6771	0.9032	1.1257
C	DE	0.0018	0.0016	0.0030	0.0027	0.0024	0.0032
I	DER	1.6454	0.7234	0.6766	0.4032	0.2660	0.2891
A							

continúa...

Tabla IV.4 (continuación)

Medio de disolución III

		Conc. (ug/ml)					
		2.2220	4.4440	8.8880	13.3330	17.7770	22.2220
A							
B		0.1061	0.2216	0.4459	0.6736	0.8957	1.1217
S		0.1079	0.2260	0.4514	0.6730	0.8913	1.1227
O		0.1059	0.2233	0.4506	0.6729	0.8919	1.1303
R		0.0973	0.2181	0.4440	0.6610	0.8900	1.1241
B		0.1081	0.2257	0.4512	0.6765	0.8990	1.1283
A							
N	\bar{x}	0.1050	0.2229	0.4486	0.6714	0.8935	1.1254
C	DE	0.0044	0.0032	0.0034	0.0059	0.0036	0.0037
I	DER	4.2384	1.4590	0.7644	0.8931	0.4138	0.3297

Medio de disolución IV

		Conc. (ug/ml)					
		2.2220	4.4440	8.8880	13.3330	17.7770	22.2220
A							
B		0.1056	0.2177	0.4260	0.6523	0.8680	1.0881
S		0.1131	0.2211	0.4326	0.6575	0.8700	1.0894
O		0.1070	0.2137	0.4326	0.6523	0.8650	1.0843
R		0.1187	0.2284	0.4351	0.6594	0.8799	1.0916
B		0.1122	0.2211	0.4388	0.6567	0.8784	1.0864
A							
N	\bar{x}	0.1113	0.2204	0.4330	0.6556	0.8722	1.0879
C	DE	0.0052	0.0054	0.0046	0.0032	0.0065	0.0027
I	DER	4.7062	2.4555	1.0792	0.4885	0.7518	0.2565

\bar{x} = media aritmética (n = 5).
 DE = desviación estándar.
 DER = desviación estándar relativa.

4.2.2. ANALISIS DE LAS MUESTRAS Y PERFILES DE DISOLUCION.

Para cada lote y cada metodología de disolución se calculó el porcentaje disuelto de CBZ a cada tiempo de muestreo, para ello se multiplicó el siguiente factor por la concentración obtenida al interpolar la absorbancia de la muestra en una curva patrón preparada para este fin:

$$\frac{\text{conc. ug}}{\text{ml}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ ug}} \times \frac{1 \text{ tableta}}{200\text{mg/tabl}} \times \frac{900 \text{ ml/vaso}}{1 \text{ vaso}} \times \frac{25 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 100$$

$$= 5.625$$

En las figuras 4.2.1 a 4.2.4 se presentan los perfiles de disolución obtenidos con los 11 lotes estudiados bajo las cuatro metodologías de disolución.

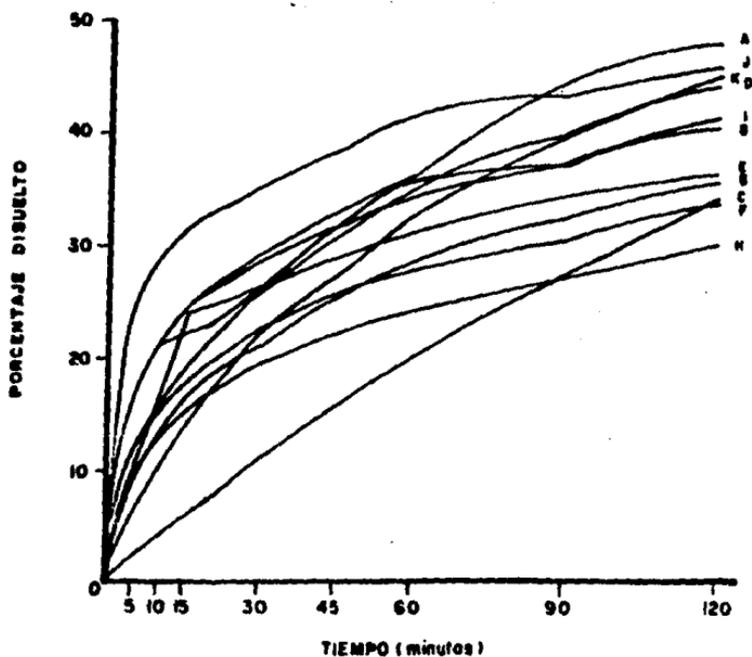


FIG. 4.2.1 PERFIL DE DISOLUCION DE LAS TABLETAS DE CBZ ESTUDIADAS. METODO I. (HCl 0.1N pH=1.0±0.05, - CANASTILLAS, 100rpm)

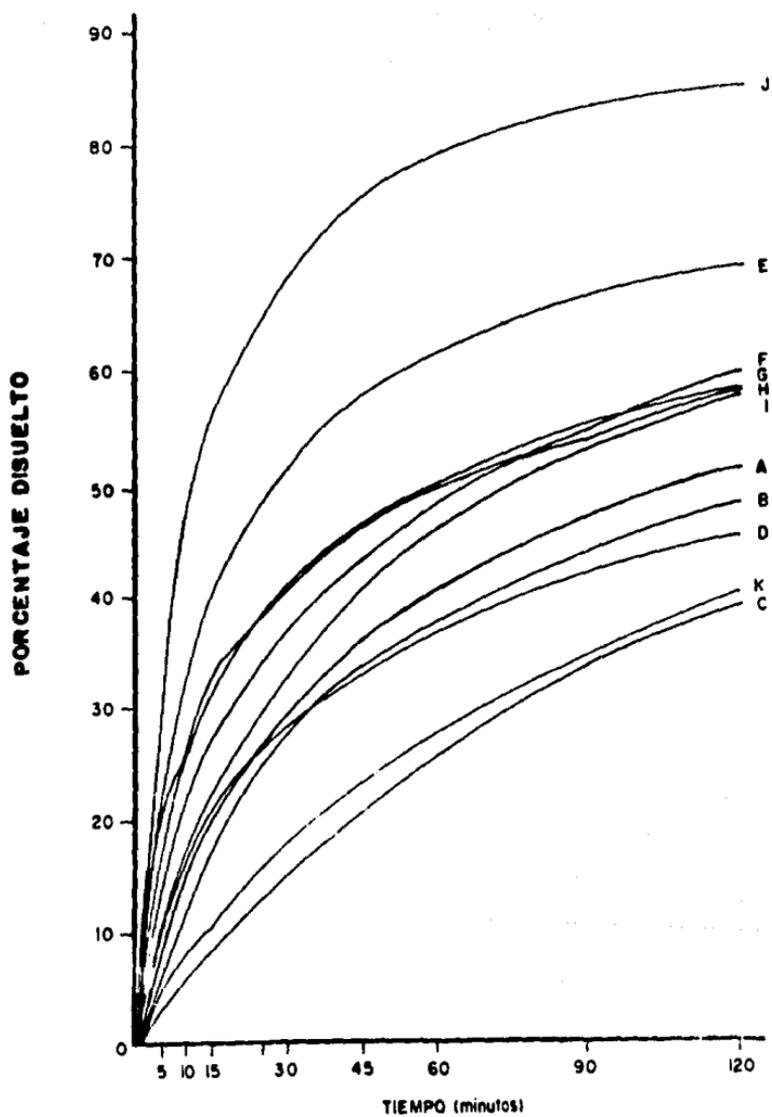


Fig. 4.2.2. PERFIL DE DISOLUCION DE LAS TABLETAS DE CBZ — ESTUDIADAS. METODO II (Fluido gástrico simulado — s/enzima pH=1.2, paletas, 50 rpm.)

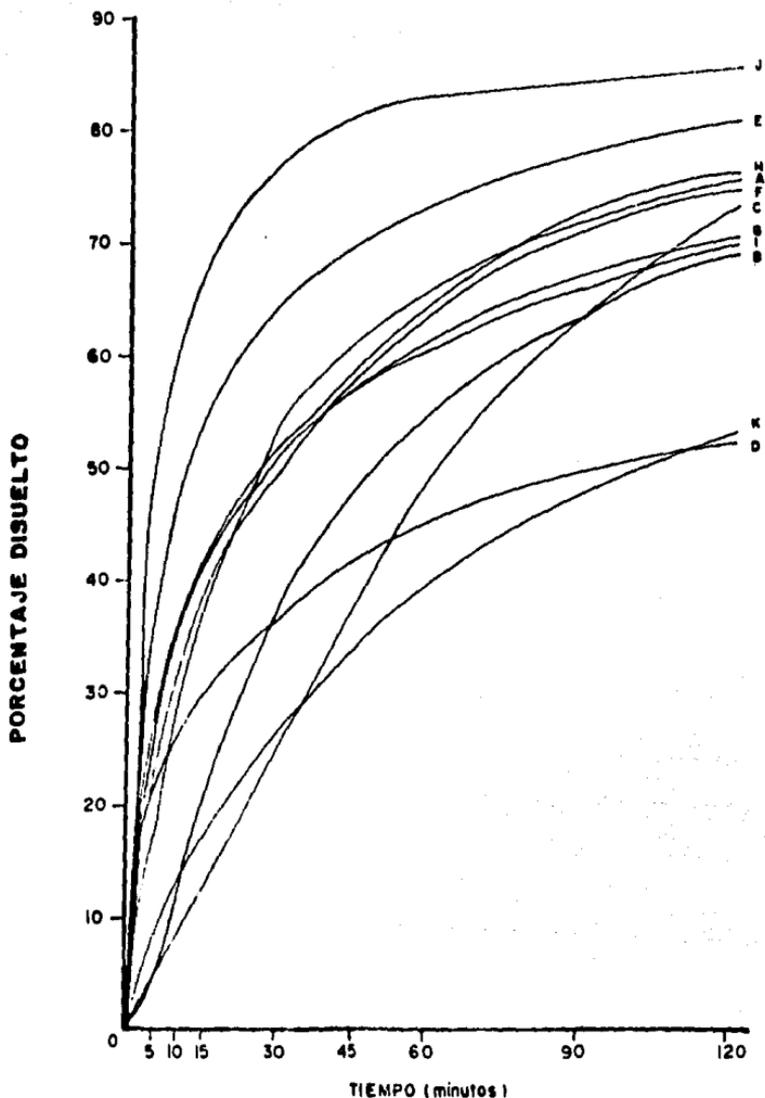


Fig.4.2.3. PERFIL DE DISOLUCION DE LAS TABLETAS DE CBZ - ESTUDIADAS. METODO III. (Fluido intestinal simulado s/enzima pH=7.5, paletas, 75 rpm.)

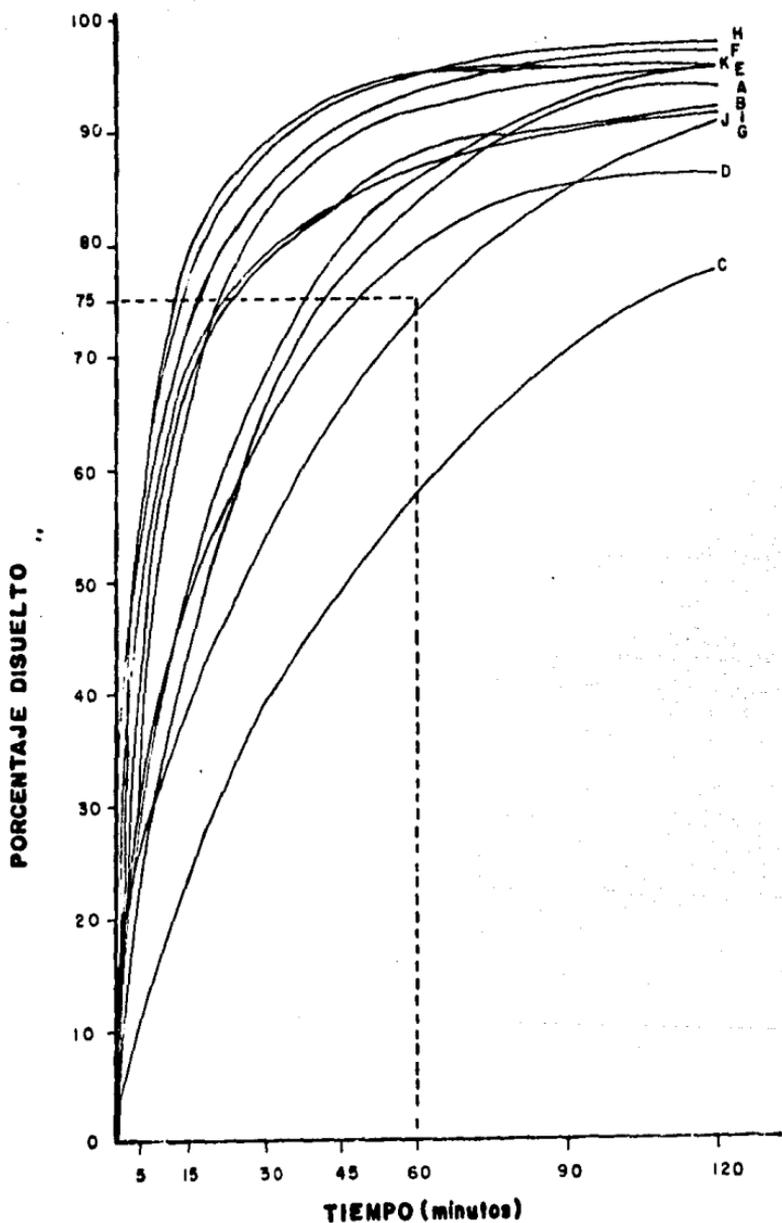


Fig. 4.2.4. PERFIL DE DISOLUCION DE LAS TABLETAS DE CBZ -- ESTUDIADAS. METODO IV (Lauril Sulfato de Sodio al 1% p/v, paletas, 75rpm.)

4.3. ESTUDIO "in vivo".

4.3.1. EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE CBZ EN PLASMA.

4.3.1.1. LINEALIDAD.

La Tabla IV.5 presenta los datos de las cinco curvas de calibración preparadas para evaluar la linealidad del método analítico tanto para la determinación de la CBZ como la de su metabolito. Los parámetros estadísticos se encuentran en la Tabla IV.6 y su representación gráfica se muestra en las Figuras 4.3 y 4.4.

Tabla IV.5. RESULTADOS OBTENIDOS DE 5 CURVAS DE CALIBRACION PARA CUANTIFICAR ECBZ Y CBZ EN PLASMA.

		ECBZ				

Conc.	Altura ECBZ/ E.I.					
(ug/ml).	1	2	3	4	5	
0.05	0.0948	0.0945	0.0770	0.0849	0.9160	
0.10	0.1605	0.1639	0.1636	0.1602	0.1608	
0.20	0.3296	0.3178	0.2984	0.3038	0.2977	
0.50	0.7057	0.7055	0.6988	0.6617	0.6410	
0.60	0.7479	0.7455	0.7497	0.7482	0.7628	
0.80	0.9772	0.9607	0.9873	1.0216	1.0108	
1.60	1.9174	1.9712	1.8705	1.9506	2.0158	

		CBZ				

Conc.	Altura CBZ/ E.I.					
(ug/ml).	1	2	3	4	5	
0.2	0.2145	0.2261	0.2499	0.2413	0.2589	
0.5	0.6812	0.5477	0.5168	0.6059	0.6496	
1.0	1.2330	1.1411	1.0873	1.1869	1.1433	
2.0	2.4977	2.5003	2.1010	2.1042	1.8869	
3.0	3.2296	3.2006	2.9546	3.3070	3.1579	
5.0	5.9836	5.1756	4.9745	5.2616	5.2218	
10.0	10.4953	10.7985	9.4928	10.1538	10.1681	

*E.I. = Estándar interno.

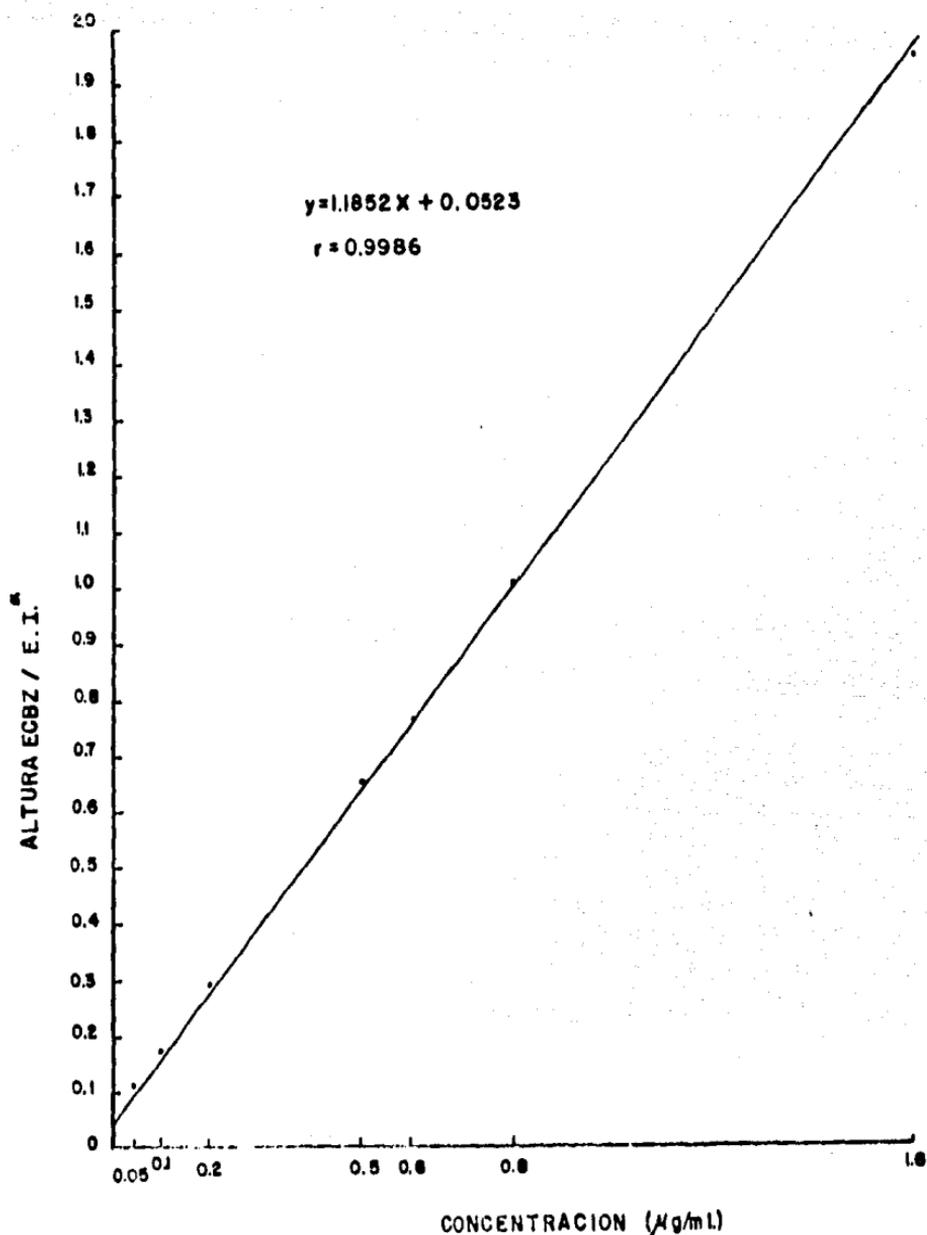


Fig. 4.3 LINEALIDAD DEL METODO ANALITICO DE EXTRACCION PARA CUANTIFICAR ECBZ EN PLASMA.

* E.I. = ESTANDAR INTERNO

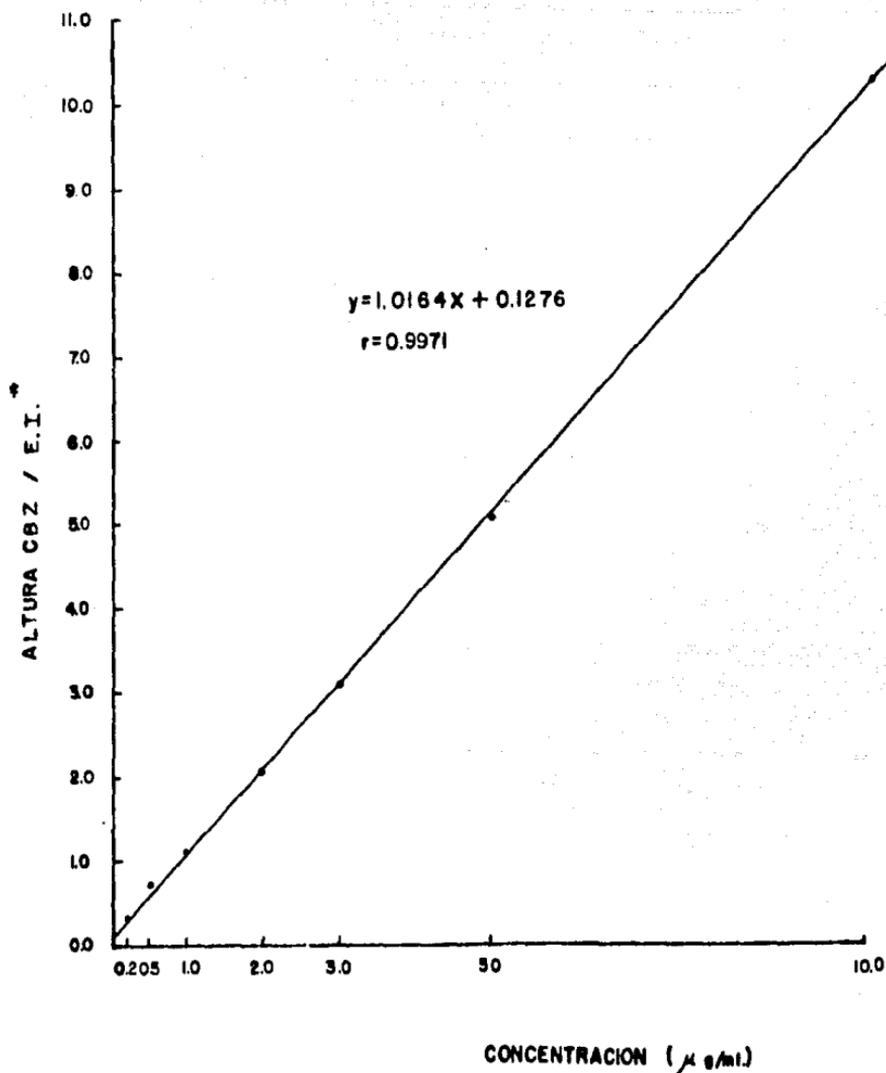


Fig. 4.4 LINEALIDAD DEL METODO ANALITICO DE EXTRACCION PARA CUANTIFICAR CBZ EN PLASMA.

*** E.I. = ESTANDAR INTERNO**

Tabla IV.6. PARAMETROS ESTADISTICOS OBTENIDOS EN LA EVALUACION DE LA LINEALIDAD DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR ECBZ Y CBZ EN PLASMA.

Parámetro	ECBZ	CBZ
r^2	0.9973	0.9944
r	0.9986	0.9971
m	1.1852	1.0164
σ_m	0.0216	0.0270
b	0.0523	0.1276
σ_b	0.01608	0.1206
e	0.0314	0.2521
n	5	5

- r^2 = Coeficiente de determinación.
 r = Coeficiente de correlación.
 m = Pendiente de la recta.
 σ_m = Desviación estándar de la pendiente.
 b = Ordenada al origen.
 σ_b = Desviación estándar de la ordenada al origen.
 e = Error típico de estimación.
 n = Pares de datos.

4.3.1.2. REPETIBILIDAD.

La repetibilidad del método se presenta en la Tabla IV.7 en la que puede observarse al valor de la desviación estándar relativa como resultado de las seis réplicas trabajadas para cada punto.

Tabla IV. 7. REPETIBILIDAD DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR ECBZ Y CBZ EN PLASMA.

ECBZ ----			
Concentración ug/ml	Altura Promedio* ECBZ/E.l.	Desviación estándar	DER %
0.1	0.1380	0.0111	8.0866
0.5	0.5727	0.0418	7.3072
0.6	0.7940	0.0632	7.9625
0.8	0.9586	0.0476	4.9727
1.6	1.8973	0.1194	6.2932

CBZ ---			
Concentración ug/ml	Altura Promedio* CBZ/E.l.	Desviación estándar	DER %
0.5	0.6268	0.0455	7.2738
2.0	2.2449	0.1023	4.5589
3.0	3.6259	0.2879	7.9409
5.0	5.444	0.2433	4.4692
10.0	10.2231	0.5454	5.3354

* n = 6

E.l. = Estándar interno.

DER = Desviación estándar relativa.

4.3.1.3. EXACTITUD.

Las Tablas IV.8.1 y IV.8.2 muestran la estimación del recobro del ECBZ y de la CBZ en muestras plasmáticas de concentración conocida. Con los datos obtenidos se calcularon parámetros de linealidad y se estableció la exactitud del método utilizando la prueba "t" de Student.

Tabla IV.B.1. ESTIMACION DEL RECUBRO DE ECGZ EN MUESTRAS PLASMATICAS SOMETIDAS AL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS.

Adicionado (ug/ml)	Recobrado (ug/ml)	Adicionado (ug/ml)	Recobrado (ug/ml)
0.05	0.0625	0.6	0.5362
	0.0625		0.5344
	0.0521		0.5375
	0.0578		0.5364
	0.0627		0.5470
0.1	0.1124	0.8	0.7016
	0.1148		0.6898
	0.1146		0.7089
	0.1121		0.7337
	0.1126		0.7259
0.2	0.2344	1.6	1.3800
	0.2259		1.4188
	0.2119		1.3462
	0.2158		1.4040
	0.2114		1.4510
0.5	0.5057		
	0.5056		
	0.5007		
	0.4740		
	0.4591		

Exactitud.

a) Ecuación de la recta: Adicionado contra recobrado

$$y = 0.8453x + 0.0444$$

b) Coeficiente de determinación: $r^2 = 0.9974$

c) Coeficiente de correlación : $r = 0.9987$

d) Intervalo de confianza:

Porcentaje promedio de recobro $\bar{x} = 100.8884$

Desviación estándar $\sigma = 12.8934$

Pares de datos $n = 35$

Estadígrafo "t" $t_{0.975} = 2.0301$

$$t \text{ calc.} = \frac{\bar{x} - u}{s / \sqrt{n}}$$

$$t \text{ calc.} = 0.4076$$

Ya que $t \text{ calc.} < t_{0.975}$ queda demostrado que el método es exacto.

Intervalo de confianza al 95 %:

$$\bar{x} \pm t_{0.975} (s / \sqrt{n})$$

$$100.8884 \pm 4.4241$$

por tanto queda que $96.4643 < 100.0 < 105.3126$

Tabla IV.8.2. ESTIMACION DEL RECOBRO DE CBZ EN MUESTRAS PLASMATICAS SOMETIDAS AL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS.

Adicionado (ug/ml)	Recobrado (ug/ml)	Adicionado (ug/ml)	Recobrado (ug/ml)
0.2	0.1952	3.0	2.8258
	0.2053		2.8004
	0.2261		2.5858
	0.2185		2.8933
	0.2339		2.7632
0.5	0.6023	5.0	5.2284
	0.4859		4.5236
	0.4589		4.3481
	0.5366		4.5986
	0.5748		4.5639
1.0	1.0838	10.0	9.1647
	1.0036		9.4293
	0.9567		8.2901
	1.0435		8.8668
	1.0055		8.8793
2.0	2.1872		
	2.1894		
	1.8411		
	1.8439		
	1.6543		

Exactitud.

a) Ecuación de la recta: Adicionado contra recobrado

$$y = 0.8868x + 0.1168$$

- b) Coeficiente de determinación : $r^2 = 0.9944$
- c) Coeficiente de correlación : $r = 0.9972$
- d) Intervalo de Confianza
- | | | |
|--------------------------------|-------------|-----------|
| Porcentaje promedio de recobro | \bar{x} | = 98.2763 |
| Desviación estándar | σ | = 9.8933 |
| Pares de datos | n | = 35 |
| Estadigrafo "t" | $t_{0.975}$ | = 2.0301 |

$$t \text{ calc.} = \frac{\bar{x} - u}{s / \sqrt{n}}$$

$$t \text{ calc.} = 1.0307$$

Ya que $t \text{ calc.} < t_{0.975}$ queda demostrado que el método es exacto.

Intervalo de confianza al 95 %:

$$\bar{x} \pm t_{0.975} (s / \sqrt{n})$$

$$98.2763 \pm 2.0924$$

por tanto queda que $96.1839 < 100.0 < 100.3687$.

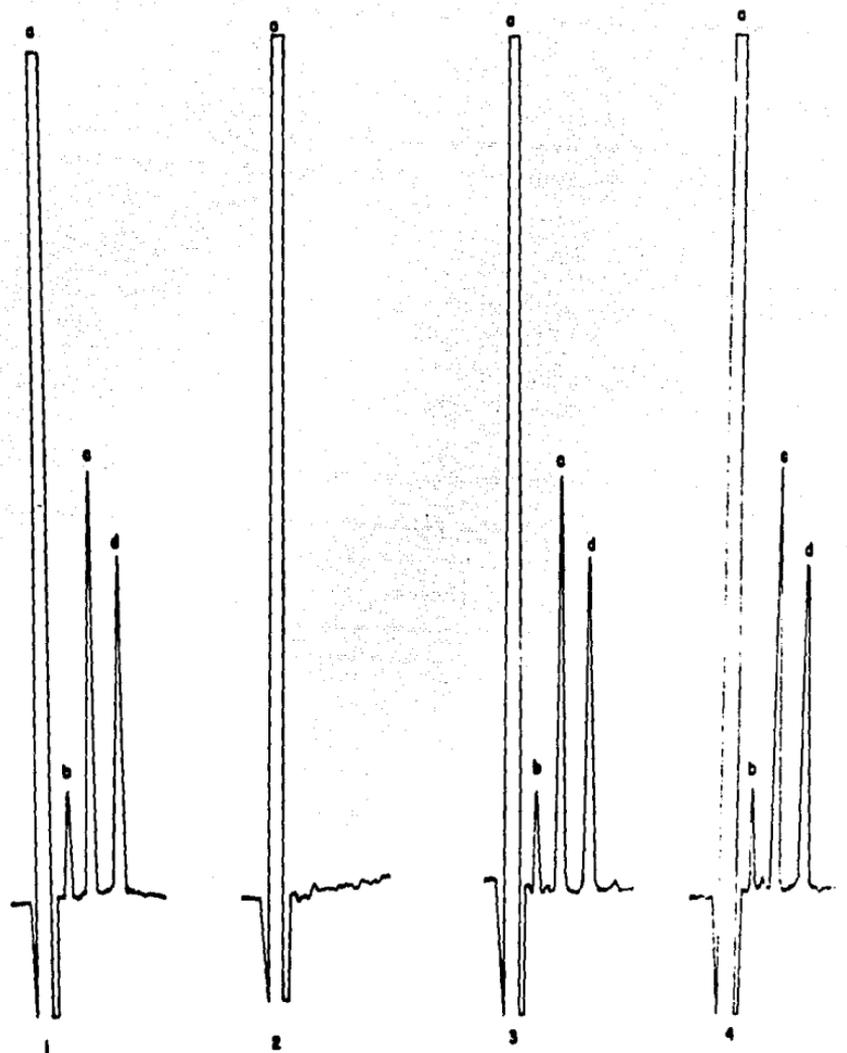
4.3.1.4. SELECTIVIDAD.

Como puede apreciarse en los cromatogramas de la figura 4.5, la resolución de los compuestos de interés es adecuada y no existen interferencias significativas a los tiempos de retención registrados.

ECBZ :	4.6 minutos
CBZ :	6.5 "
CNZ :	8.8 "

4.3.1.5. ESTABILIDAD.

Durante el estudio de estabilidad se determinan las concentraciones de ECBZ y de CBZ y el porcentaje de degradación correspondiente, después de un periodo de 120 días de congelación. Estos datos se presentan en la Tabla IV.9.



a. FRENTE DEL SOLVENTE
 b. ECBZ
 c. C3Z
 d. CNZ

FIG. 4.5. CROMATOGRAMAS.

1. MEZCLA DE ESTANDARES EN SOLVENTE.
2. PLASMA LIBRE DE FARMACOS.
3. PLASMA ADICIONADO DE LOS TRES ESTANDARES.
4. MUESTRA PLASMATICA DE UN VOLUNTARIO AÑADIDA DE ESTANDAR INTERNO (CNZ)

Tabla IV.9. ESTABILIDAD DEL ECBZ Y DE LA CBZ EN PLASMA A -4 ° C

ECBZ

Días de almacenamiento	Muestra Control Conc. (ug/ml)	Muestra Problema Conc. (ug/ml)	Porcentaje de degradación
0	0.2813	0.2804	0.0253
15	0.2941	0.2848	0.2735
30	0.3008	0.2861	0.4421
45	0.2936	-	-
60	0.2698	0.2448	0.6745
75	0.3095	0.2812	0.8760
90	0.3148	0.2857	0.9160
120	0.2817	0.2444	1.0423

CBZ

Días de almacenamiento	Muestra Control Conc. (ug/ml)	Muestra Problema Conc. (ug/ml)	Porcentaje de degradación
0	1.2975	1.2984	-
15	1.2804	1.2715	0.9978
30	1.2331	1.2212	1.4673
45	1.0109	1.0000	1.1018
60	1.2630	1.2511	1.5029
75	1.1573	1.1428	1.6780
90	1.1706	1.1566	1.6388
120	1.1712	1.1555	1.8387

4.3.2. ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD RELATIVA.

4.3.2.1. PRODUCTOS SELECCIONADOS.

Para el estudio de biodisponibilidad se seleccionó un producto de alta, uno de mediana y otro de baja disolución, correspondiendo tales características a los lotes J, A y C respectivamente, e incluyendo asimismo al producto innovador marcado como lote K. Los perfiles de disolución de éstos productos están incluidos en el Apéndice III.

4.3.2.2. SELECCION DE VOLUNTARIOS.

En la Tabla IV.10 se presentan las características biológicas de los voluntarios participantes en el estudio.

Tabla IV.10. VARIABLES BIOLÓGICAS DE LOS VOLUNTARIOS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD

Voluntario	No.	Edad (años)	Talla (m)	Peso (Kg)
F.J.	1	20	1.75	75.0
E.C.	2	26	1.66	67.0
J.M.	3	30	1.70	80.0
A.P.	4	26	1.72	61.2
J.B.	5	27	1.70	63.7
J.L.	6	29	1.59	68.0
A.A.	7	25	1.67	64.5
G.M.	8	29	1.68	55.0
\bar{x}		26.5	1.68	66.8
DE		3.1	0.04	7.8

\bar{x} = media aritmética.
DE = desviación estándar.

4.3.2.3. ANALISIS DE LAS MUESTRAS Y PERFILES FARMACOCINETICOS.

Las concentraciones plasmáticas individuales fueron obtenidas interpolando la relación de alturas entre los picos de CBZ y los picos de CNZ en la curva de calibración en plasma preparada para este fin. Estos datos están contenidos en el Apéndice IV. En la Tabla IV.11 y en la Fig. 4.6 pueden observarse las concentraciones plasmáticas promedio calculadas para cada una de las formulaciones administradas.

No se detectaron concentraciones de ECBZ en el plasma de los voluntarios con la dosis única de CBZ administrada.

Tabla IV.11. CONCENTRACIONES PLASMATICAS PROMEDIO EN $\mu\text{g/ml}$ OBTENIDAS DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE 400 mg DE CBZ EN TABLETAS.

Tiempo (h)	Formulación			
	K	C	A	J
0.0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	0.8820 * (0.6767)	0.6052 (0.5151)	1.3241 (1.0327)	1.1240 (0.8613)
1.0	1.3629 (0.5999)	1.9351 (1.2417)	2.2941 (1.8992)	3.2024 (1.6474)
2.0	1.7907 (0.6313)	2.6909 (1.0768)	4.2448 (1.8922)	4.2556 (0.9135)
3.0	2.3904 (0.6069)	3.6336 (1.1586)	5.1449 (1.3716)	5.4482 (1.2827)
4.0	2.6400 (0.7115)	4.0964 (1.6310)	5.6679 (1.6184)	5.8952 (1.2810)
6.0	3.1162 (0.6482)	4.6830 (1.5883)	5.9837 (0.8290)	5.9862 (0.5681)
8.0	3.4515 (0.7873)	4.7216 (1.3507)	5.7516 (0.9654)	5.7455 (0.6742)
12.0	3.9551 (1.0150)	4.0059 (0.9070)	5.5512 (1.2802)	5.4014 (1.1841)
24.0	4.2489 (0.9061)	4.8079 (0.6792)	4.5472 (0.8110)	4.6456 (1.0484)
48.0	2.7250 (0.4264)	2.5587 (0.7857)	3.0325 (0.5200)	3.0749 (0.8874)
72.0	1.6041 (0.4774)	1.7708 (0.6565)	1.7258 (0.5465)	2.1101 (0.7611)
96.0	0.9868 (0.4002)	1.1107 (0.5298)	1.1699 (0.3077)	1.4001 (0.5261)
120.0	0.5410 (0.3004)	0.5671 (0.4519)	0.7758 (0.2113)	0.8225 (0.3774)

* Desviación estándar

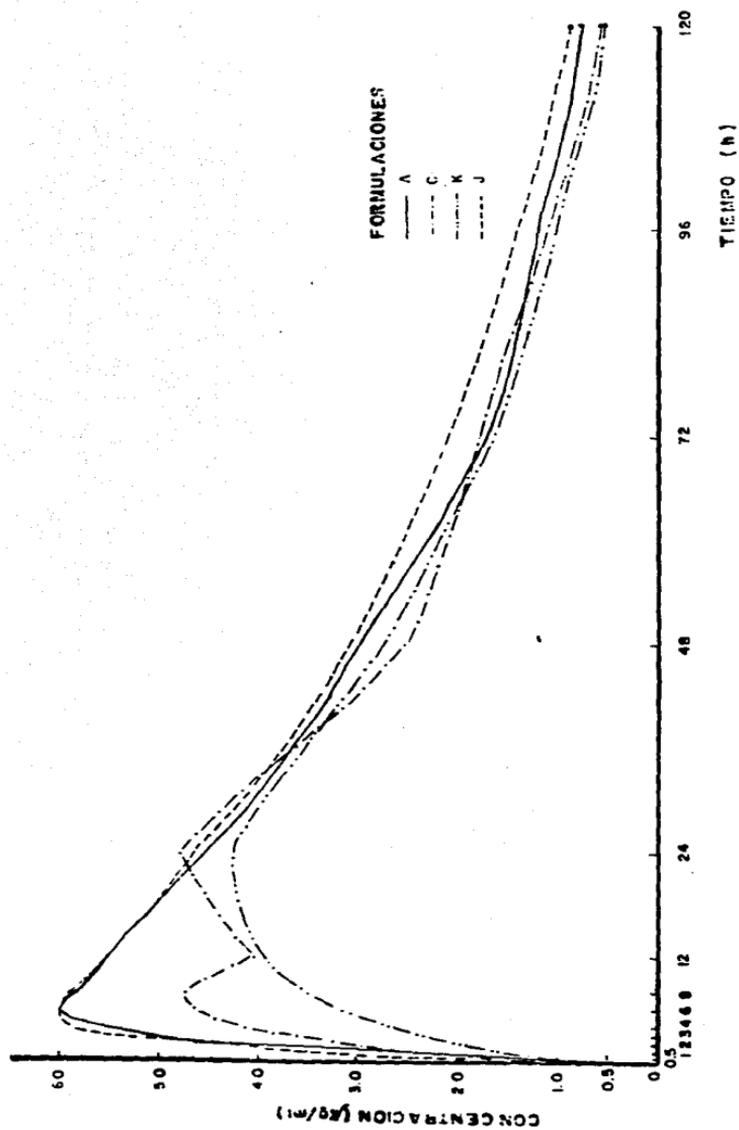


Fig. 4.6 GRAFICA DE LA CONCENTRACION PLASMATICA PROMEDIO (n=6) Vs. TIEMPO DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE TABLETAS DE 627. (6000mc)

Capítulo 5. ANALISIS DE RESULTADOS.

5.1. PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD.

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla IV.1 se encontró que todos los lotes cumplieron con los ensayos de identidad, variación de peso y valoración del principio activo. En lo que respecta a la prueba de desintegración efectuada bajo dos especificaciones diferentes, merece atención el hecho de que los lotes A, B, C, D y K no cumplieron con lo indicado en el Suplemento I de la USP XXI mientras que el lote A no cumplió además con lo especificado en la USP XXI. Al lote J no se le aplicó la prueba de desintegración por no contar con suficientes tabletas.

El comportamiento de desintegración de éstos lotes despertó un especial interés al encontrar que el producto innovador no cumplió con las más recientes especificaciones para la prueba de desintegración. Este hecho por supuesto marcó una pauta más para incluir los lotes antes mencionados en la etapa del estudio de biodisponibilidad, y establecer una posible correlación entre los parámetros de desintegración y los parámetros "in vivo".

5.2. ESTUDIO "in vitro".

5.2.1. ESTUDIO DE DISOLUCION.

Para el estudio de disolución la incorporación del método I en el que se emplea HCl 0.1N como medio de disolución se debió a los resultados que Kahela (1983), Kaneniwa (1984) y Kaneniwa (1984) obtuvieron en sus respectivos trabajos. Estos autores reportan que bajo la utilización de la citada metodología para las tabletas de CBZ, se obtienen perfiles de disolución correlacionables con el comportamiento "in vivo" de las formulaciones estudiadas. Los resultados de la presente investigación no coinciden con los de éstos reportes como se discutirá más adelante.

En base a que la CBZ es un fármaco que se absorbe a nivel de tracto gastrointestinal (Levy, 1975), se aplicaron las metodologías II y III en las que se hace uso de los fluidos gástrico e intestinal respectivamente como medios de disolución (La Marca, 1984; Boer, 1981). La omisión de las enzimas en la preparación de éstos fluidos se debió a que se presentaron problemas técnicos tanto en la toma de las muestras como en la cuantificación del fármaco por el método espectrofotométrico. Estas dificultades se observaron en un estudio preliminar.

Por último, debido a que la CBZ es insoluble en agua, se optó por emplear un medio de disolución conteniendo un agente tensoactivo cuya presencia permitiera lograr una disolución adecuada (Leeson, 1974; Datos no publicados, Ise, 1987).

Las condiciones de tipo y velocidad de agitación, y volúmen del medio de disolución se aplicaron como se indica en los reportes originales. El volúmen del medio de disolución aseguró la existencia de condiciones "sink" en cada metodología, y el tiempo de muestreo cubrió las necesidades para obtener un perfil de disolución completo.

5.2.2. EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE CBZ EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE DISOLUCION.

El método espectrofotométrico cumplió con los requisitos de validación de métodos analíticos. Así, la linealidad en los diferentes medios de disolución resultó ser adecuada debido a que los parámetros estadísticos obtenidos indican una relación lineal entre la concentración de CBZ disuelta y la absorbancia en el rango de concentración de 2.222 a 22.222 ug/ml.

El criterio de aceptación para la evaluación de la repetibilidad de estas metodologías se basó en el valor de la desviación estándar relativa indicada en la Tabla IV.4. En todos los casos este valor fue menor a 5% por lo que se establece que los métodos son repetibles.

5.2.3. PERFILES DE DISOLUCION.

Como se puede apreciar en las Figuras 4.2.1 a 4.2.4, las cuatro metodologías de disolución aplicadas produjeron notables diferencias en los perfiles de disolución de cada uno de los lotes estudiados.

La disolución de las tabletas de CBZ por el método I, en ningún caso llegó al 50% a los 120 minutos de muestreo. En cambio, los porcentajes de disolución mejoraron notablemente con los métodos II y III, y con éste último fue posible diferenciar de una manera muy general, la existencia de tres grupos de lotes con diferente comportamiento: de baja disolución (lotes D y K), de mediana disolución (lotes A, B, C, F, G, H e I), y de alta disolución (lotes E y J). La disolución más alta se logró con el método IV: a los 60 minutos diez de los lotes se habían disuelto prácticamente entre el 75 y el 95%; con el lote C se observó una disolución inferior al 60% en el tiempo señalado.

Es interesante destacar el comportamiento del producto innovador, que bajo los tres primeros métodos ensayados, a los 60 minutos se disolvió menos del 40%, en tanto que con el método IV el porcentaje alcanzado fue del 86%.

En general, las Figuras 4.2.1 a 4.2.4 indican que los mayores porcentajes de fármaco disuelto se obtienen con la metodología IV, y con el método I los perfiles de disolución resultaron ser los más bajos.

Con el fin de establecer la existencia de diferencias significativas en el porcentaje disuelto "interlote" obtenido bajo una misma metodología, se realizó el análisis de varianza de una vía (ANAEVA) al porcentaje disuelto por lote a los 45, 60 y 120 minutos. De este procedimiento se encontró que en todos los casos existían diferencias interlote estadísticamente significativas ($p=0.05$).

La comparación del porcentaje disuelto de lote a lote se efectuó mediante la prueba de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) destinada a comparaciones múltiples. Este método permite establecer la mínima diferencia significativa entre dos medias para un riesgo determinado, basándose en la prueba "t" de Student y empleando el valor de la varianza del error (Montgomery, 1984).

Así:

$$DMS = t_{\alpha/2, gl_{\epsilon}} \sqrt{MC_{\epsilon} (2/n)}$$

en la que α = nivel de significancia (0.05)
t = estadígrafo "t" de Student.
gl $_{\epsilon}$ = grados de libertad del error.
MC $_{\epsilon}$ = Media de cuadrados del error.
n = número de observaciones.

Los resultados se muestran en la Tabla V.1.

Tabla V. 1. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE LA DIFERENCIA MÍNIMA SIGNIFICATIVA PARA LA DISOLUCIÓN ENTRE LOTES UTILIZANDO LOS DIFERENTES MÉTODOS.

Método	Tiempo (minutos)		
	45	60	120
I	*JIAGDEKBFHC ** ----- ----- -----	JAIDGKEBFHC ----- ----- -----	AJKDIGEBCFH ----- ----- -----
II	JEIGFHABDKC ----- ----- -----	JEIGFHABDKC ----- ----- -----	JEFIGHABDKC ----- ----- -----
III	JEAHFIGBDCK ----- ----- -----	JEAHFGIBCDK ----- ----- -----	JEAHFCGIBKD ----- ----- -----
IV	EHFAIGKBDJC ----- ----- -----	EHFAIGKBDJC ----- ----- -----	FHAKEBIGJDC ----- ----- -----

* Los productos siguen un orden decreciente según el porcentaje disuelto.

** Los productos subrayados por la misma línea no son significativamente diferentes ($p=0,05$).

Bajo este procedimiento puede apreciarse que con los métodos I y IV a los 45 y 60 minutos, y con los métodos I, II, III y IV a los 120 minutos no es tan evidente la existencia de diferencias "interlote" estadísticas significativas. Por el contrario, puede distinguirse básicamente el predominio de tres grupos de lotes de diferentes características de disolución ($p=0.05$) cuando se observan los resultados de la DMS obtenidos con los métodos II y III a los 45 y 60 minutos. Conjuntamente a lo señalado anteriormente, se agruparían a los lotes E y J como productos de disolución alta; los lotes A, B, F, G, H e I como formulaciones de disolución intermedia, y los lotes C, D y K como productos de disolución baja.

Las constantes de disolución se calcularon a partir de los datos del porcentaje no disuelto contra tiempo. Todas las formulaciones se ajustaron a una cinética de primer orden (Tabla V.2). De esta manera se encontró que la mayor velocidad de disolución se obtuvo con la utilización del método IV, y con el método I el valor de la constante de velocidad de disolución resultó ser el más bajo.

Tabla V.2. VALOR DE LA CONSTANTE DE DISOLUCIÓN DE PRIMER ORDEN

Lote	K (min ⁻¹ x 10 ⁻³) dis			
	Método I	Método II	Método III	Método IV
A	5.0	5.7	11.2	24.8
B	3.3	5.3	10.2	23.7
C	3.4	4.1	11.2	12.2
D	4.3	4.5	5.1	16.0
E	2.8	8.7	11.7	23.2
F	2.7	6.9	10.6	29.1
G	3.4	6.2	8.7	18.0
H	2.4	6.9	10.3	18.8
I	3.5	6.2	8.5	18.9
J	3.7	14.2	12.9	18.6
K	4.7	4.1	6.1	23.1

K = constante de disolución.
dis

Posteriormente se calculó el porcentaje disuelto promedio de los 11 lotes a los 45, 60 y 120 minutos bajo los cuatro métodos (Tabla V.3). Además, a partir de los valores individuales del porcentaje disuelto a estos tiempos se calculó el área bajo la curva (ABC) de disolución de cada lote y de esta manera pudo obtenerse la Eficiencia de la disolución como una medida indicativa tanto de la velocidad como de la cantidad disuelta del fármaco a partir de su forma farmacéutica. Este último cálculo se efectuó como lo indica vaughan (1976):

$$E = \frac{\text{ABC}_t}{A} \times 100$$

rect 100%

E = eficiencia de la disolución.

t

ABC_t = Área bajo la curva de tiempo 0 a tiempo t.

A = Área del rectángulo de disolución al tiempo t
rect 100%

Sobre los datos de eficiencia de la disolución se calculó nuevamente la desviación estándar y la desviación estándar relativa "interlote" (Tabla V.4) para establecer el poder de discriminación de cada método en base al valor de la desviación estándar relativa tanto del promedio del porcentaje disuelto como del promedio de la eficiencia de la disolución.

En las Tablas V.3 y V.4 puede observarse que los valores más bajos en el porcentaje disuelto y eficiencia de la disolución, así como de las desviaciones estándar relativas (poder de discriminación), corresponden al método I. Las desviaciones estándar relativas más altas se obtienen con el método II, lo que le confiere a éste el mejor poder de discriminación. El método III dió valores mayores de porcentaje disuelto y eficiencia de la disolución, pero proporcionó las menores desviaciones estándar relativas en relación al método II. Finalmente, con el método IV se observaron los mejores valores tanto para el porcentaje disuelto como para la eficiencia de la disolución, sin embargo su poder de discriminación entre lotes fue el más bajo.

Tabla V.3. PORCENTAJE PROMEDIO DE CBZ DISUELTA CON LOS CUATRO METODOS EMPLEADOS (TABLETAS DE 200 mg).

Tiempo (min)	Porcentaje disuelto				
		Método I	Método II	Método III	Método IV
45	\bar{x}	27.9702	41.4131	55.1458	79.8256
	DE	6.0105	15.4739	14.0203	13.2599
	DER	21.4891	37.3647	25.4241	16.6111
60	\bar{x}	31.3190	45.3113	60.0705	84.2055
	DE	6.2334	15.1021	12.4537	11.0626
	DER	19.9029	33.3298	20.7318	13.0991
120	\bar{x}	39.4993	55.4996	71.0615	92.2303
	DE	5.9313	13.3641	10.3017	5.9630
	DER	15.0163	24.0797	14.4969	5.4654

\bar{x} = media aritmética (n = 11)

DE = desviación estándar

DER = desviación estándar relativa.

Tabla V.4. EFICIENCIA PROMEDIO DE LA DISOLUCIÓN DE LAS TABLETAS DE CBZ CON LOS CUATRO MÉTODOS EMPLEADOS.

Tiempo (min)		Método I	Método II	Método III	Método IV
45	\bar{x}	13.9850	20.7065	27.5729	39.9137
	DE	3.0052	7.7369	7.0101	6.6288
	DER	21.4891	37.3648	25.4239	16.6090
60	\bar{x}	15.6646	22.6556	30.0343	42.3027
	DE	3.1063	7.5510	6.2263	5.5413
	DER	19.8305	33.3297	20.7309	13.0991
120	\bar{x}	19.7496	27.7498	35.5307	46.1151
	DE	2.9656	6.6820	5.1508	2.9815
	DER	15.0162	24.0797	14.4969	6.4554

\bar{x} = media aritmética (n = 11)

DE = desviación estándar

DER = desviación estándar relativa.

Los valores más altos de las desviaciones estándar relativas y de la F calculada por el ANADEVIA efectuada para el porcentaje disuelto "interlote", coinciden en general al señalar que las metodologías II y III proporcionan la mayor discriminación entre lotes a los 45 y 60 minutos (Tabla V.5).

Tabla 1 5. COMPARACION ENTRE LOS VALORES DE LA DESVIACION ESTANDAR RELATIVA Y DE LA F CALCULADA PARA OBSERVAR DIFERENCIA ENTRE LOTES.

Parámetro	Tiempo (minutos)		
	45	60	120
DER (Efic. de dis.)	Mét II > Mét III > Mét I > Mét IV	Mét II > Mét III > Mét I > Mét IV	Mét II > Mét I - Mét III > Mét IV
DER (Porcentaje dis.)	Mét II > Mét III > Mét I > Mét IV	Mét II > Mét III > Mét I > Mét IV	Mét II > Mét I - Mét III > Mét IV
F calc.	Mét II > Mét III > Mét IV > Mét I	Mét II > Mét III > Mét IV > Mét I	Mét III > Mét II > Mét IV > Mét I

DER : Desviación estándar relativa.

F calc. : Estadígrafo "F" calculado para el porcentaje disuelto y para la Eficiencia de la disolución de los productos estudiados.

Con el fin de investigar sobre una posible correlación desintegración-disolución se efectuaron correlaciones lineales entre los parámetros de la prueba de desintegración con los obtenidos en el estudio de disolución. En general la prueba de desintegración ha demostrado ser un indicador pobre de la disolución y de la biodisponibilidad de formas farmacéuticas sólidas. Hasta principios de la década de los 70 se comenzó a proporcionar más importancia al proceso de disolución de fármacos a partir de su forma farmacéutica, por ello y desde entonces la prueba de disolución pasó a tener carácter oficial en muchas farmacopeas (Hanson, 1982). En la Tabla V.6 se presentan las correlaciones obtenidas que resultaron tener significancia estadística ($p = 0.05$). A pesar de haber encontrado algunas correlaciones significativas, existen reportes indicando que éstas carecen de valor predictivo "in vivo" debido a las diferentes velocidades de disolución y de absorción de los polimorfos de la CBZ a partir de sus formulaciones farmacéuticas (Bouche, 1985). La prueba de desintegración para las tabletas de CBZ se consideraría únicamente como un indicio de su control de calidad.

Tabla V.6. CORRELACIONES LINEALES DESINTEGRACION - DISOLUCION QUE RESULTARON SER SIGNIFICATIVAS A UN NIVEL DE 0.05

Variable independiente	Variable dependiente	Valor de r
Tiempo de desintegración según Supl. I USP XXI	Porcentaje disuelto con Método II-45'	0.7703
Tiempo de desintegración según Supl. I USP XXI	Porcentaje disuelto con Método III-45'	0.6387
Tiempo de desintegración según Supl. I USP XXI	Porcentaje disuelto con Método II-60'	0.8030
Tiempo de desintegración según Supl. I USP XXI	Porcentaje disuelto con Método II-120'	0.8085
Tiempo de desintegración según Supl. I USP XXI	Constante de disolución bajo Método II	0.7831

r = coeficiente de correlación.

En lo que se refiere a la influencia de la composición del medio de disolución sobre el perfil de disolución, algunos estudios señalan que al emplear HCl 0.1 N como medio de disolución, se observa un rápido crecimiento de los cristales anhidros presentes en las tabletas de CBZ provocando por consiguiente que su área de disolución efectiva disminuya (Kahela, 1983; Laine, 1984). El mismo comportamiento parecen seguir los cristales de fenobarbital, según los resultados obtenidos en un estudio efectuado por Leeson (1974) al emplear HCl 0.1 N y jugo gástrico como medios de disolución. Esta es una posible explicación al tratar de interpretar los porcentajes de disolución tan bajos obtenidos en el presente trabajo después de aplicar el método I con HCl 0.1 N.

Con la aplicación de los métodos II y III se estudió el comportamiento de disolución de las tabletas de CBZ al pH fisiológico de los fluidos gástrico e intestinal respectivamente (Levy, 1975; La Marca, 1984). En éste caso la disolución y discriminación entre lotes con ambos métodos mejoró en relación con el método I. Aparentemente el pH tuvo poca influencia en los resultados, aunque con el método III se obtuvieron mejores porcentajes de disolución por tratarse de un medio de disolución con pH relativamente básico.

Siguiendo las sugerencias de Charles Ise, Director adjunto de la División de Bioequivalencia de la FDA (Datos no publicados, 1987) se ensayó el método IV con el empleo de un agente tensoactivo en el medio de disolución y considerando un valor para Q de 75% a los 60 minutos. Con ello los perfiles de disolución fueron los más altos y diez de los once lotes estudiados cumplieron con éste requisito.

Los bajos porcentajes disueltos observados con el lote C son atribuibles a su propia formulación y al proceso de manufactura, ya que éste comportamiento fue semejante bajo las cuatro metodologías ensayadas.

La mejoría de la disolución con el método IV se puede explicar haciendo referencia a otras investigaciones cuyos autores señalan que la acción de un agente surfactante retrasa el crecimiento y desarrollo de los cristales anhidros de algunos fármacos. De ésta manera predomina su conversión a cristales dihidratados, los cuales se caracterizan por disolverse en agua con mayor rapidez en relación a la forma anhidra (Boer, 1981; Kahela, 1983).

5.3. ESTUDIO "in vivo".

5.3.1. EVALUACION ESTADISTICA DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE CBZ EN PLASMA.

La determinación de CBZ así como de su metabolito ECBZ en plasma por el método de CLAR mostró linealidad en el intervalo de 0.2 a 10 ug/ml, y de 0.05 a 1.6 ug/ml respectivamente. En lo que se refiere a la repetibilidad del método, ésta quedó demostrada por el valor de la desviación estándar relativa menor a 10% el cual es aceptado para estudios de cuantificación en plasma. La estimación del porcentaje de recobro demostró asimismo que el método es exacto debido a que se obtiene 100.8884% de recobro para el ECBZ y 98.2763% para la CBZ.

No se presentaron interferencias en los cromatogramas obtenidos a los tiempos de retención registrados, por lo que se confirmó que el método es selectivo. Dentro del intervalo de 120 días no se registró degradación considerable en los productos de interés. Los tiempos de retención obtenidos fueron concordantes con los reportados en el trabajo de Chan (1985).

El análisis rutinario de las muestras plasmáticas fue realizado tanto para muestras control como para muestras de voluntarios, para asegurar la confiabilidad y exactitud de los datos.

5.3.2. ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD RELATIVA.

5.3.2.1. DISEÑO ESTADISTICO.

El diseño estadístico seleccionado para el presente trabajo fue el cruzado de 4 x 4 vías, de tal manera que cada voluntario recibió cuatro tratamientos en forma aleatoria secuencial a lo largo de cuatro semanas alternadas. En este diseño no sólo pudieron evaluarse las diferencias entre tratamientos, sino que también pudieron examinarse las diferencias atribuibles al período y orden de administración. Otra ventaja inherente a este diseño se relaciona con el hecho de que puede evitarse la influencia de las características determinantes del voluntario en el nivel de respuesta, comparando los demás tratamientos en el mismo voluntario. Este procedimiento no elimina las variaciones biológicas intrasujeto, pero en el caso de que éstas variaciones sean sustancialmente más pequeñas que las variaciones intersujeto, entonces un diseño cruzado proporciona estimados precisos de los parámetros de interés (Wagner, 1975; Kenneth, 1980).

5.3.2.2. PERFILES FARMACOCINETICOS.

No fue posible la determinación del metabolito ECBZ en el plasma de los voluntarios, dado que se detectó en casos

aislados y a concentraciones muy bajas. Algunos autores indican que las concentraciones de ECBZ y CBZ fluctúan de manera importante durante el día (Hoopener, 1980; Strandjord, 1980; Tomson, 1983).

A partir de los valores de la concentración plasmática de CBZ contra tiempo se calcularon los parámetros farmacocinéticos individuales con ayuda del algoritmo de Brown y Manno (1978), y los estimados finales se obtuvieron recurriendo al manejo de un paquete estadístico de computación integrado a una computadora Hewlett Packard HP 900 (1984).

La gran mayoría de datos se ajustaron a un modelo abierto de un compartimiento (MAUC), lo cual concuerda con lo reportado en la literatura. Sólo en dos casos se empleó el modelo abierto de dos compartimientos (MADC), tomando en cuenta los valores del Criterio de Akaike, de la suma de cuadrados, y de la F calculada (Yamaoka, 1978a). En el Apéndice V se presentan los valores obtenidos para la constante de velocidad de absorción (k_a), el tiempo de latencia (t_{lag}), la concentración plasmática máxima ($C_p \text{ max}$), el tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima (t_{max}), la constante de velocidad de eliminación (k_d), y el área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo (ABC), ésta última calculada por el método trapezoidal.

Como era de esperarse, recurriendo a los datos del Apéndice IV y V, las concentraciones plasmáticas y los parámetros farmacocinéticos variaron de individuo a individuo, variaciones que ya han sido reportadas por otros autores. Por ejemplo, el valor individual de la constante de absorción fluctuó entre 0.078 y 2.789 h^{-1} , lo que corresponde a un tiempo de vida media de 0.248 h y 8,88 horas. De la misma manera, los valores de la concentración plasmática máxima fluctuaron en el rango de 2.75 y 8.32 $\mu g/ml$. En el caso del tiempo requerido para alcanzar la concentración plasmática máxima, su valor varió considerablemente, observándose con mayor frecuencia a las 4 y 24 horas después de la administración de las tabletas de CBZ. En lo que se refiere al tiempo de vida media, este parámetro tuvo valores desde el orden de 19.9 hasta 62.43 horas.

Los valores promedio de los parámetros farmacocinéticos para cada formulación se presentan en la Tabla V.7.

No se consideró apropiado efectuar el cálculo del tiempo medio de residencia (TMR) de las formulaciones estudiadas. Este hecho fue debido a que la estimación de los momentos estadísticos consideran que el curso temporal de la concentración de fármaco en el plasma sigue una curva de distribución normal (Yamaoka, 1978b), condición que no se presenta en los datos del estudio "in vivo" por la presencia de dos picos en los perfiles farmacocinéticos de varios tratamientos obtenidos con la aplicación del diseño estadístico de la Tabla III.5.

Tabla V.7. PARAMETROS FARMACOCINETICOS PROMEDIO OBTENIDOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE CEZ EN TABLETAS (400 mg)

Formu- lación	Ka (h ⁻¹)	t lag (h)	Kd (h ⁻¹)	t1/2 (h)	tmax (h)	Cpmax (ug/ml)	ABC ^{0*} (ug.h/ml)	F (%)
K	0.1271 (0.041)	0.5994 (1.695)	0.0231 (0.007)	33.3478 (11.562)	15.8000 (7.330)	4.2415 (0.924)	266.1834 (30.750)	
C	0.2514 (0.167)	1.0653 (2.909)	0.0199 (0.004)	36.5838 (8.823)	14.6153 (9.069)	4.8079 (1.038)	316.0503 (27.712)	112.4711 (28.252)
A	0.6217 (0.416)	0.8504 (0.836)	0.0181 (0.003)	39.9868 (9.709)	8.5454 (5.871)	5.9837 (0.829)	331.3066 (25.716)	123.1282 (18.687)
J	1.2483 (0.994)	0.3573 (0.118)	0.0184 (0.004)	39.6081 (10.888)	8.6000 (6.186)	5.9882 (0.5681)	368.8599 (25.520)	127.4137 (30.662)

Ka = Constante de absorción

t lag = Tiempo de latencia

Kd = Constante de eliminación

t1/2 = Tiempo de vida media

tmax = Tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima

Cpmax = Concentración plasmática máxima

ABC^{0*} = Area bajo la curva de 0 a 120 horas

F = Biodisponibilidad relativa.

En la Figura 4,6 y en la Tabla V.7 se observa que el producto innovador posee el valor más pequeño para la constante de absorción, lo que se traduce en la fase de absorción más prolongada en comparación del resto de los productos estudiados. Este hecho también causa que el producto estudiado posea el menor valor para la concentración plasmática máxima, en tanto que el producto J demostró producir la absorción más rápida y el más alto valor para la concentración plasmática máxima.

Hubo gran disimilitud entre productos cuando se comparó el valor del tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima, el cual varió de 8.5 a 16 horas en promedio; la concentración plasmática máxima encontrada estuvo siempre dentro del rango terapéutico y su valor osciló entre los 4 y 6.5 ug/ml. En términos generales la concentración plasmática máxima mantuvo una relación inversa con el tiempo requerido para alcanzarla.

Riad y col. (1986) encontraron que la cinética de absorción de la CBZ puede seguir un proceso combinado de primero y cero orden, indicando que debido a ello se observa una fase de absorción prolongada atribuible a una liberación continuada del fármaco durante su tránsito gastrointestinal de absorción. Sin embargo, en este estudio no se encontró este tipo de cinética en ninguno de los voluntarios.

La fase de absorción más prolongada y los parámetros farmacocinéticos del producto innovador (lote K) obtenidos en el presente trabajo ya han sido documentados en otros reportes en los que se consideró a la formulación del producto innovador como patrón de referencia (Morselli, 1975; Pynnonen, 1978).

De gran interés resultó la presencia de "dos picos" en el perfil de concentración plasmática contra tiempo que presentaron 12 tratamientos diferentes del diseño experimental. Los perfiles farmacocinéticos con doble pico se obtuvieron con todos los voluntarios a excepción de uno de ellos, en cada una de las semanas de tratamiento, y en todos los productos estudiados. Estas observaciones están resumidas en la tabla V.8.

El primer pico apareció con más frecuencia entre las 6 y 8 horas después de la administración oral del fármaco, mientras que el segundo pico se presentó a las 24 horas. En estos casos no fue posible calcular la constante de absorción y el tiempo de latencia; los valores de la concentración plasmática máxima y el tiempo requerido para alcanzarla se obtuvieron visualmente. Sólo se calculó la constante de eliminación recurriendo exclusivamente a los puntos posteriores al segundo pico en la fase lineal terminal del perfil farmacocinético; el área bajo la curva se calculó por el método trapezoidal.

Tabla V.8. PERFILES FARMACOCINETICOS CON DOBLE PICO.

Grupo	Voluntario	Semana			
		1	2	3	4
I	1	-	C	-	J
II	2	K	C	A	-
III	3	-	-	-	K
IV	4	-	A	-	-
V	5	A	-	-	C
VI	6	-	J	-	C
VII	7	-	-	-	-
VIII	8	-	-	C	-

La presencia de un segundo pico en los perfiles farmacocinéticos de la CBZ ya ha sido detectada en otros trabajos. En el presente estudio únicamente el perfil farmacocinético promedio de la formulación C muestra claramente el doble pico (Figura 4.6).

Se pueden considerar varias explicaciones para éstos resultados:

1.- La presencia de formas polimórficas de la CBZ en la forma de dosificación o la conversión de un polimorfo a otro producen diferentes características de disolución que definitivamente afectan el proceso de absorción (Kahela, 1982; Bouche, 1985; Riad, 1986).

2.- Es posible que en vista de la baja solubilidad de la CBZ en agua, la aparición de varios picos máximos o la evidencia de una fase de absorción prolongada se deba a que la secreción biliar redisuelve el fármaco remanente en el tracto gastrointestinal (Levy, 1975; Kahela, 1983).

3.- La CBZ parece sufrir una significativa recirculación enterohepática (Neuvonen, 1985; Pynnonen, 1978). Esta hipótesis se apoya en otros trabajos practicados en ratas en los que se ha demostrado que la CBZ se excreta en la bilis como N-glucurónido de CBZ, el cual parece ser hidrolizado en el intestino para liberar nuevamente CBZ y ésta finalmente reabsorberse en el tracto gastrointestinal y continuar el ciclo (Eichelbaum, 1979).

4.- Para fármacos como cimetidina, veraliprida, penicilamina y otros, se han desarrollado modelos farmacocinéticos

que contemplan la posible existencia de dos o más sitios de absorción a lo largo del tracto gastrointestinal; éstos fármacos al igual que la CBZ presentan el fenómeno del "doble pico" (Oberle, 1987; Plusquellec, 1987).

5.- Por otro lado, Riad (1986) sugiere que el "doble pico" puede deberse a una absorción inicial rápida efectuada en las porciones superiores del intestino, seguida por una marcada reducción en la velocidad de absorción en las regiones terminales del tracto gastrointestinal.

El motivo principal al plantear todas éstas hipótesis radica en la necesidad de determinar el grado de influencia que el doble pico ejerce sobre los parámetros farmacocinéticos y biofarmacéuticos, específicamente en la biodisponibilidad del fármaco.

Los valores de la constante de eliminación y del tiempo de vida media concuerdan con lo que otros autores han reportado. En promedio el tiempo de vida media varió en el intervalo de 33 a 40 horas.

En la presente investigación al determinar la biodisponibilidad de las tabletas de CBZ, el parámetro analizado fue el del ABC de 0 a 120 horas. Pedersen (1980) señala que aunque el área bajo la curva depende de la magnitud de la recirculación enterohepática, y en tales casos sea más adecuado emplear un parámetro modelo-dependiente, el valor del área bajo la curva lo considera de utilidad en la estimación de la biodisponibilidad debido a que fisiológica y farmacológicamente éste es el parámetro más significativo que refleja la concentración plasmática promedio del fármaco en todo el intervalo de tiempo estudiado. Adicionalmente a ésta observación, Colburn (1982) al hacer simulaciones y cálculos para un fármaco que sufra recirculación enterohepática, indica que aunque la recirculación enterohepática afecte la forma de la curva de concentración plasmática contra tiempo, e incremente su volumen de distribución aparente y su vida media, no altera el valor del área bajo la curva a menos que el ciclo enterohepática se interrumpa.

La formulación del producto innovador (lote K) fue tomada como estándar de referencia para calcular la biodisponibilidad del resto de los productos. A este respecto, la formulación de referencia produjo la menor ABC de 0 a 120 horas, en tanto que el valor más alto se obtuvo con el producto J.

El análisis estadístico de varianza ANADEVa para el ABC de 0 a 120 horas apropiado al diseño empleado (Wagner, 1975) se muestra en la Tabla V.9 en la que se observa que existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p = 0.05$), esto es, entre los productos administrados. No se aplicó el ANADEVa a los datos de t_{max} y C_p_{max} debido a que éstos parámetros están influidos por la fase de absorción como ya se expuso anteriormente.

**Tabla V.9. ANALISIS DE VARIANZA DEL AREA BAJO LA CURVA
DE 0 A 120 HORAS**

Fuente de variación	Grados de libertad	suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calc.	F tabla
Sujetos	7	33477.8240	4782.5452	2.5061	0.01: 3.94 0.05: 2.58
grupos	3	11457.3071	3822.4357	2.0030	0.01: 5.01 0.05: 3.16
suj/gpo	4	22010.5169	5502.6292	2.8835	0.01: 4.58 0.05: 2.93
Semanas	3	9443.5127	3147.8375	1.6495	0.01: 5.01 0.05: 3.16
Tratamientos	3	21649.3556	7216.4518	3.7815	0.01: 5.01 0.05: 4.58 *
Residual	18	24349.6877	1352.7604		
Total	31	98920.3900			

* Estadísticamente significativo.

Mediante la aplicación de la prueba de la diferencia mínima significativa DMS, pudo distinguirse que a un nivel de significancia de 0.05, el producto innovador (lote K) difiere en el valor del área bajo la curva de 0 a 120 horas del resto de los productos, es decir, los productos A, C y J son equivalentes entre sí en su valor del área bajo la curva de 0 a 120 horas, y diferentes en relación al producto innovador (Tabla V.10).

Tabla V.10. VALORES DE LA DIFERENCIA MÍNIMA SIGNIFICATIVA ENTRE LOTES OBTENIDOS DEL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD PARA EL ÁREA BAJO LA CURVA DE 0 A 120 HORAS.

Lote			
Lote	K	C	A

J	102.6765	52.8096	37.5533
A	65.1232	15.2563	-
C	49.8669	-	-

#DMS = 41.6899 (p = 0.05) : J A C K

#Los productos subrayados por una misma línea no son estadísticamente diferentes.

En la mayoría de los estudios de biodisponibilidad, es frecuente distinguir productos cuyas biodisponibilidades son menores a la del producto de referencia; no obstante también es posible encontrar productos más biodisponibles o más rápidamente absorbidos que el estándar. Esta última situación se observó en los resultados de biodisponibilidad relativa presentados en la Tabla V.7. Con la prueba de la DMS fue posible determinar que los productos A, C y J son bioinequivalentes en relación al producto innovador.

Desafortunadamente en la mayoría de los estudios de biodisponibilidad en tabletas de CBZ se ha puesto poco interés en la aparición de efectos secundarios. Levy (1975) y Neuvonen (1985) indican que la aparición de efectos colaterales se relaciona a menudo con la ingesta de tabletas que se caracterizan por presentar una absorción rápida. Es decir, la misma concentración se tolera adecuadamente cuando ésta se alcanza en mayor tiempo, pero produce efectos secundarios intensos cuando su absorción es demasiado rápida. Debido a éstas características, para la prác-

tica clínica se sugiere recurrir a productos de CBZ que presenten una absorción más prolongada.

La manera más directa para establecer la equivalencia terapéutica de dos formulaciones que contengan el mismo principio activo, es mediante pruebas clínicas. Aunque en la presente investigación no se llevó un registro detallado de la persistencia de los efectos colaterales después de la administración de las tabletas de CBZ, es de gran valor señalar que todos los voluntarios se quejaron por presentar sueño, desgarro, mareo, sensación de pesadez, jaqueca y aturdimiento después de administrárles las formulaciones A y J, las cuales presentaron las velocidades de absorción más altas; en cambio la mayoría de los individuos toleraron bien la dosis administrada del producto innovador (Lote K) que como se observa en la Figura 4.6, presenta un comportamiento de liberación lenta.

El analizar únicamente los valores del área bajo la curva de 0 a 120 horas es inadecuado caracterizar la equivalencia clínica de productos que contienen CBZ (Neuvonen, 1985). Observando los perfiles de disolución obtenidos con la aplicación del método III de disolución para las tabletas de CBZ, y el perfil de concentración plasmática promedio contra tiempo de cada uno de los productos administrados (Fig. 4.2.3 y 4.6) se observa que la concentración plasmática máxima mejor tolerada y comprendida en el rango terapéutico fue menor de 4.5 ug/ml. Este valor se obtuvo con la administración de productos que se disolvieron en no más de 35% a los 45 minutos, y tampoco más de 45% a los 60 minutos; mientras que los productos que se disolvieron más de 65% a los 45 minutos alcanzaron concentraciones plasmáticas máximas de aproximadamente 6 ug/ml. Como ya se mencionó anteriormente, esta última concentración plasmática causó la aparición de efectos secundarios más frecuentes, lo que fue debido a la administración de productos cuyos valores de la constante de absorción fueron los más elevados.

5.3.2.3. CORRELACIONES "in vitro - in vivo".

Las características de solubilidad y disolución de un fármaco son parámetros esenciales relacionados con su absorción y eficacia terapéutica. Uno de los objetivos de la prueba de disolución es proporcionar información útil acerca del desarrollo de formulaciones farmacéuticas y de su control de calidad. En el caso de fármacos de baja solubilidad cuya absorción está limitada por el proceso de disolución, es de gran utilidad contar con métodos "in vitro" que puedan reflejar en cierto modo el comportamiento "in vivo" de la formulación.

Aproximadamente el 80% de los problemas de bioequivalencia documentada por la Food and Drug Administration (FDA) han sido debidos principalmente a formulaciones farmacéuticas cuya disolución es incompleta e inadecuada (Boer, 1981; Cabana, 1982; Dakkuri, 1982).

Otro aspecto de los estudios de disolución es que adquieren gran validez cuando pueden correlacionarse con datos "in vivo". Generalmente las correlaciones "in vitro-in vivo" se obtienen cuando se aplican métodos de disolución capaces de discriminar entre productos y entre lotes de un mismo producto. Los elementos claves son a) reproducibilidad del método; b) medio de disolución apropiado; c) grado de agitación; y d) condiciones sink (Cabana, 1982; DakKuri, 1982).

Con objeto de investigar sobre la existencia de alguna correlación entre los parámetros obtenidos en el estudio de disolución y de desintegración, con los parámetros "in vivo" derivados del estudio de biodisponibilidad, se correlacionaron las siguientes variables:

Variables "in vitro"	Variables "in vivo"
-----	-----
Porcentaje disuelto, logaritmo del porcentaje disuelto y Eficiencia de la disolución a los 30, 45, 60 y 120 min.	120 h ABC o
Constante de la velocidad de disolución.	
Tiempo de desintegración.	
-----	-----

Desafortunadamente no fue posible correlacionar estadísticamente los valores de los parámetros "in vitro" con la constante de velocidad de absorción (K_a) debido a la influencia de la recirculación enterohepática del fármaco en el valor de este último parámetro.

Las correlaciones que resultaron tener significancia estadística ($p=0.05$) se resumen en la Tabla V.11 y la representación gráfica de una de ellas puede observarse en la Fig. 4.7.

Tabla V.11. CORRELACIONES " in vitro - in vivo "
SIGNIFICATIVAS (p: 0.05)

Variable independiente	Variable dependiente	r	m	b
% Dis 120' Mét II	ABCo ¹³⁰	0.9415	3.8540	79.6977
% Dis 60' Mét III	"	0.9117	2.1405	193.3086
Log % Dis 60' Mét III	"	0.9355	294.2000	-196.4780
Eficiencia Dis 60' Mét III	"	0.9117	4.2817	193.3003
Eficiencia Dis 120' Mét III	"	0.9809	6.1677	98.1677
k Dis Mét III	"	0.9317	14.0260	176.1200

r = Coeficiente de determinación
m = Pendiente de la recta
b = Ordenada al origen.

En previas investigaciones Kaneniwa (1984) encontró una correlación "in vitro - in vivo" para las tabletas de CBZ al utilizar un método de disolución en el que se emplea un recipiente cilíndrico con capacidad de 2 litros para el fluido gástrico empleado y agitación de 100 rpm con paletas.

Cuando en el presente trabajo se aplicaron las metodologías I y II, no se logró establecer una correlación "in vitro - in vivo". Es posible que las condiciones hidrodinámicas para que estos dos métodos obtengan el valor predictivo del comportamiento "in vivo" señalado por Kaneniwa (1984) y Neuvonen (1985), se consigan aumentando el volumen del medio de disolución en el método I, o incrementando la agitación a 100 rpm en el método II (Tabla III.2). Sin embargo el empleo de un volumen de disolución mayor a 1 litro es inoperante en los laboratorios que siguen los lineamientos de la USP.

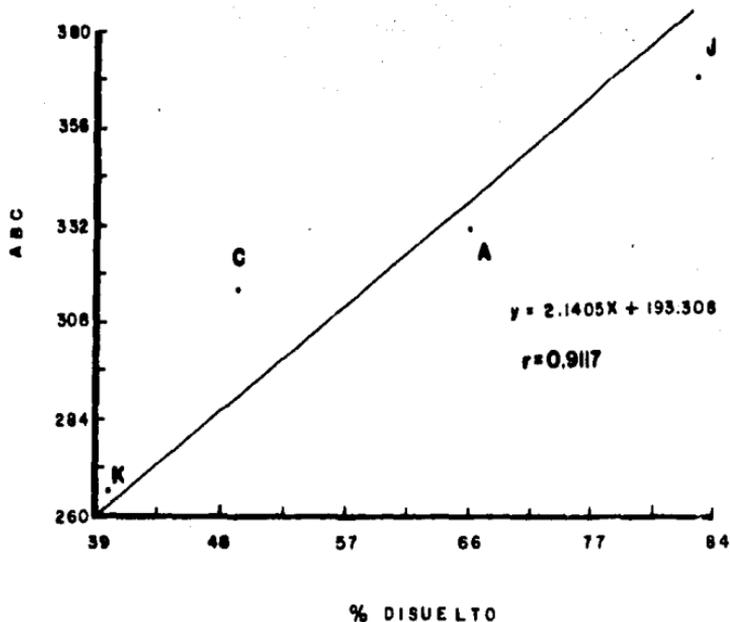


Fig. 4.7 CORRELACION "in vitro-in vivo" PARA LAS TABLETAS DE CBZ. PORCENTAJE DISUELTO A LOS 60 MINUTOS CON EL METODO III vs ABC DE 0 A 120 HORAS.

K, C, A, J : lotes estudiados

Por otro lado, el método III resultó estar más apoyado por su correlación con los parámetros del estudio "in vivo" (Tabla V.11), no obstante que su correlación con la prueba de desintegración fue muy baja. En este aspecto el método II siguió un comportamiento completamente opuesto, es decir, su correlación con la prueba de desintegración es más contribuyente que con el estudio de biodisponibilidad (Tabla V.6).

Considerando además el hecho de que no se obtuvieron correlaciones significativas entre la prueba de desintegración y el estudio de biodisponibilidad, es interesante cuestionar la validez y confiabilidad de la prueba de desintegración para las tabletas de CBZ.

Con la aplicación del método III de disolución para las tabletas de CBZ y ante la necesidad de obtener concentraciones terapéuticas y evitar en lo posible la aparición de efectos secundarios severos, se sugiere en primera instancia que se disuelva no menos de 35% a los 45 minutos, y no más de 65% a los 60 minutos.

Para el completo desarrollo de un estándar de bioequivalencia "in vitro" es imprescindible finalmente afinar las especificaciones del porcentaje disuelto para optimizar la correlación encontrada y ejecutar estudios de disolución y biodisponibilidad con lotes adicionales (Cabana, 1982). Por estas razones se considera una necesidad el continuar estudiando el comportamiento "in vitro" e "in vivo" de las tabletas de CBZ, confiriendo especial importancia a la aparición de efectos secundarios. El surgimiento del método III con posibilidades de poder predictivo sugiere más atención para próximas investigaciones; paralelamente la metodología II merece un interés adicional en virtud de que otros autores se inclinan por su aplicación.

Capítulo 6. CONCLUSIONES.

1. Los 11 productos de tabletas de CBZ cumplieron con las especificaciones de ensayos de identidad, variación de peso y valoración del principio activo; en cambio los lotes A, B, C y K no cumplieron con los requerimientos marcados para la prueba de desintegración.
2. Los métodos espectrofotométricos para determinar la concentración de CBZ disuelta en los diferentes medios de disolución fueron lineales y repetibles en el intervalo de concentraciones estudiado.
3. Con la aplicación de las metodologías II y III se obtuvo el mejor poder de discriminación entre los productos estudiados; la mayor eficiencia de la disolución la produjo el método IV.
4. Con el empleo de los métodos II y III se pudo diferenciar entre productos de alta, mediana y baja disolución, en base a lo cual se seleccionaron los productos que se incluyeron en la fase "in vivo".
5. La metodología analítica empleada en la determinación de CBZ y su metabolito en plasma fue lineal, repetible, específica y estable por lo que se consideró apropiada para el estudio de biodisponibilidad.
6. En el estudio "in vivo" se obtuvo que el valor de la vida media osciló entre 33 a 40 horas; la concentración plasmática máxima varió entre 4 y 6 ug/ml y el del tiempo requerido para alcanzar esta concentración estuvo entre 8.5 y 16 horas.
7. Algunos tratamientos presentaron doble pico en el perfil farmacocinético de la CBZ, lo que posiblemente se deba a que este fármaco sufre recirculación enterohepática, o bien, que la secreción biliar estimula la absorción del fármaco no disuelto.
8. Al caracterizar el área bajo la curva de 0 a 120 y efectuar el ANADEV, los productos resultaron ser bioequivalentes en relación al producto innovador.
9. El producto innovador produjo una liberación lenta del fármaco trayendo consigo una considerable reducción en la aparición de efectos secundarios en contraposición a los productos restantes cuyos efectos secundarios y velocidad de absorción fueron mayores.
10. No se encontró una correlación significativa determinante ($p < 0.05$) entre los resultados de la prueba de desintegración y los del estudio de biodisponibilidad.

11. Se encontraron varias correlaciones significativas ($p=0.05$) al relacionar estadísticamente los parámetros de disolución obtenidos con el método III, y el área bajo la curva de 0 a 120 horas del estudio "in vivo".

Debido a la presencia del doble pico en algunos perfiles farmacocinéticos surge la necesidad de desarrollar proyectos de investigación en los que se propongan técnicas adecuadas para estudiar claramente el proceso de recirculación enterohepática, y en cuyo caso se considera necesario evaluar:

- la influencia de los polimorfos de la CBZ sobre su velocidad de disolución y absorción;
- el cociente de extracción hepática y la magnitud de la recirculación enterohepática de la CBZ y por lo tanto, su influencia sobre los parámetros farmacocinéticos;
- el vaciado y tránsito intestinal así como la motilidad gastrointestinal a efecto de determinar la posible existencia de dos sitios de absorción para este antiepiléptico;
- la farmacocinética de la CBZ después de administrarla en solución y en tabletas en presencia de alimento y sin él;
- la persistencia de efectos secundarios principalmente durante la fase de absorción de la CBZ.

Capítulo 7. **APENDICE.**

NORMA

TABLETAS DE CARBAMAZEPINA

CBM

15.01.2608

JCC

01/M.1.521.2608



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

Subdirección General de Obras y Abastecimiento
Jefatura de Control de Calidad



Subdirección General de Obras y Abastecimiento
Jefatura de Control de Calidad

..... FOLIO PARA CARBAMAZEPINA, TABLETAS.

CLAVE: 2508

1. NOMBRE GENERICO ACEPTADO POR EL IMSS:

Carbamazepina.

1.1. NOMBRE QUIMICO:

5-carbonoil-5 H-dibenzo (b,f) azepina.

1.2. SINONIMOS:

5 H-dibenzo (b,f) azepina-5-carboxenida.

2. CONTENIDO:

200 mg/tableta. Cada tableta debe contener de 190 a 210 mg de Carbamazepina.

Contenido en porcentaje: 95 a 105.

3. DESCRIPCION:

3.1. Presentación de 20 tabletas para uso oral acondicionadas en los mismos envases de venta al público y aprobados por la SSA.

El tipo de envase es responsabilidad del proveedor. Debe proteger al producto y resistir las condiciones de manejo, almacenaje y transporte en los diferentes climas del país.

3.2. EMPAQUE MULTIPLE:

Cajas de 10 unidades enfajilladas o en envoltura de papel celofán o gratinada.

3.3. EMPAQUE COLECTIVO:

Caja de cartón corrugado en forma rectangular baja, que resista la estiba y contenga cierto número de unidades múltiples de 10 y cuyo peso total no sea mayor a 25 kg.

Para facilitar el manejo en almacenaje, debe llevar la siguiente información en las caras contiguas:

- Carbamazepina
- Clave: 2508
- Lote
- Proveedor
- Conservarse en lugar seco y fresco
- Manejarse con cuidado
- IMSS



Subdirección General de Obras y Abastecimiento
Jefatura de Control de Calidad

3.4. LEYENDAS:

3.4.1. En el envase primario llevará las siguientes leyendas:

* CARA ANTERIOR:

Nombre del producto

Tabletas

Logotipo del laboratorio (si lo tuviere)

Lote

Registro No. SSA

Cualquier otra leyenda exigida por los organismos oficiales.

* CARA POSTERIOR:

Carbamazepina

Clave: 2308

Para uso exclusivo del sector público

* Para aquellos casos en que la presentación del producto sea en frasco, o en que de burbujas (blister pack), etc., las leyendas se pondrán en una sección de la impresión.

3.4.2. LEYENDAS DEL SECTOR PÚBLICO EN EL ENVASE SECUNDARIO:

Carbamazepina

Clave: 2508

Para uso exclusivo del Sector Público

3.4.3. LEYENDAS LEGALES Y COMERCIALES EN EL ENVASE SECUNDARIO (*)

Nombre del producto

Tabletas

Logotipo del laboratorio (si lo tuviere)

20 tabletas

Hecho en México

Nombre del fabricante

Dirección completa:

FORMULA: Cada tableta contiene:

Carbamazepina 200 mg

Excipiente c.b.p. 1 tableta



Subdirección General de Obras y Abastecimiento
Jefatura de Control de Calidad

DOSES: La que el médico señale.

Vía de administración: Oral

Este medicamento es de amplio delicado

Consérvese en lugar seco y fresco

Lote

Registro No. SSA

Marca registrada (en caso de tenerla)

* Cualquier otra leyenda exigida por los organismos oficiales.

En caso de no tener envase secundario, estas leyendas deben aparecer en la etiqueta del envase primario.

4. MUESTREO:

Tomar al azar de diferentes empaques colectivos pertenecientes a un mismo lote, 30 envases de 20 tabletas para efecto de análisis de laboratorio. En esta cantidad están consideradas las muestras de retención.

5. METODOS DE PRUEBA:

Todas las pruebas se realizarán bajo las siguientes condiciones:

- Los aparatos empleados deberán estar debidamente calibrados.
- Los disolventes y reactivos serán grado reactivo, a menos que se especifique otra cosa.
- El agua empleada en las determinaciones será destilada.
- El material de vidrio será borosilicatado.
- Las muestras que se tomen para cada ensayo, provendrán de no menos de 10 envases de producto, tomados al azar del lote correspondiente. Para las pruebas que no sean individuales por tableta, se deberán moler no menos de 10 tabletas de los envases en estudio y se homogeneizarán escrupulosamente antes de proceder al análisis.

5.1. ENSAYOS DE IDENTIDAD:

5.1.1. Espectro infrarrojo:

Equipo y reactivos:

**Subdirección General de Obras y Abastecimiento**
Jefatura de Control de Calidad

- Espectrofotómetro infrarrojo
- Acetona
- Gas nitrógeno
- Cloruro de metileno
- Patrón de referencia de Carbamazepina USP
- Material usual de laboratorio

PROCEDIMIENTO:

Triturar finamente no menos de 20 tabletas y tomar una cantidad equivalente a 250 mg de Carbamazepina exactamente pesada, colocar en un matraz de 50 ml, agregar 15 ml de acetona y hervir durante 5 minutos a reflujó y en baño de agua. Filtrar en caliente y recibir el filtrado en un segundo matraz, enjuagar con 2 porciones de acetona caliente de 5 ml cada una. Evaporar con ayuda de gas nitrógeno, hasta tener 5 ml de volumen aproximadamente, enfriar en baño de hielo hasta que los cristales se hayan formado. Filtrar los cristales, lavar con 3 ml de acetona fría y secar en estufa de vacío a 70°C durante 30 minutos. Dispersar los cristales así obtenidos en bromuro de potasio y hacer la pastilla. Correr el espectro infrarrojo.

El espectro exhibe máximas a las mismas longitudes de onda que el espectro obtenido con el patrón de referencia de Carbamazepina USP (anexo 1).

5.1.2. IDENTIDAD Y SUSTANCIAS RELACIONADAS:

Para realizar esta prueba, proceder de acuerdo a la Norma IMSS de Métodos Generales para Análisis de Medicamentos de Cromatografía en Capa Delgada.

Equipo y reactivos:

- Material para cromatografía en capa delgada
- Placas cromatográficas con sílica Gel G
- Patrón de referencia de Carbamazepina USP
- Tolueno
- Metanol
- Cloroformo
- Iminobenzil
- Dicromato de potasio
- Acido sulfúrico
- Agua
- Material usual de laboratorio

PREPARAR LAS SIGUIENTES SOLUCIONES:

**Subdirección General de Obras y Abastecimiento**
Secretaría de Control de Calidad

- Solución A: Triturar no menos de 10 tabletas y tomar el equivalente a 0.20 g de Carbamazepina. Agitar esta cantidad con 3 porciones de cloroformo de 10 ml cada una, posteriormente filtrar. Evaporar los filtrados combinados hasta sequedad y disolver el residuo en 10 ml de cloroformo.
- Solución B: Preparar una solución 0.0050 % p/v de iminodibenzil en metanol.
- Solución C: Disolver 20 mg del patrón de referencia de Carbamazepina en un mililitro de cloroformo.

PROCEDIMIENTO:

Aplicar separadamente a la cromatoplaaca 10 ml de la solución A, 10 ml, de la solución B y en el tercer carril, 10 ml de la solución C.

Dejar secar las soluciones y colocar en la cámara de desarrollo, utilizando una mezcla de 95 volúmenes de tolueno y 5 volúmenes de metanol, como fase móvil.

Dejar correr la fase móvil hasta que se encuentre a poca distancia de la parte superior de la cromatoplaaca. Retirar la cromatoplaaca, dejar secar durante 15 minutos y rociar con una solución 0.5 % p/v de dicromato de potasio en una mezcla de 1 volumen de ácido sulfúrico y 4 volúmenes de agua.

INTERPRETACION:

La mancha principal del cromatograma, obtenida con la solución A es similar en Rf, tamaño y color a la mancha principal obtenida en el cromatograma de la solución C. Cualquier otra mancha obtenida en el cromatograma de la solución A, además de la mancha principal no es más intensa que la mancha obtenida con la solución B.

5.2. VARIACION DE PESO:

Proceder de acuerdo a la Norma IMSS de Métodos Generales para Análisis de Medicamentos de Variación de Peso, en el capítulo correspondiente a Tabletts.

5.3. TIEMPO DE DESINTEGRACION:

Proceder de acuerdo a la Norma IMSS de Métodos Generales para Análisis de Medicamentos de Prueba de Desintegración, en el capítulo correspondiente a Tabletts.

Subdirección General de Cbras y Abastecimiento
 Dirección de Control de Calidad

Utilizar como líquido de inmersión, solución reactivo de fluido gástrico simulado.

El tiempo de desintegración para tabletas de Carbamazepina no debe ser mayor de 5 minutos.

5.4. VALORACION DEL PRINCIPIO ACTIVO:

Equipo y reactivos:

- Espectrofotómetro ultravioleta-visible
- Patrón de referencia de Carbamazepina USP
- Etanol al 96 %

Preparación del patrón:

Pesar exactamente alrededor de 15 mg de patrón de referencia USP de Carbamazepina y disolver con etanol al 96 % en un matraz volumétrico de 25 ml; tomar una alícuota de 5 ml de la solución anterior, y transferir a un matraz volumétrico de 250 ml, diluir y aforar con etanol al 96 %.

Preparación de la muestra:

Pesar y moler 20 tabletas, transferir a un matraz una cantidad del polvo exactamente pesado, equivalente a 60 mg de Carbamazepina, agregar 25 ml de etanol al 96 % y hervir por unos minutos, agitar 10 minutos la mezcla caliente, con un agitador magnético cubriendo el matraz con un vidrio de reloj; filtrar a través de un filtro de fibra de vidrio de poro fino lavando el matraz y el filtro con varias porciones de etanol al 96 %, enfriar el filtrado y aforar a 100 ml con etanol al 96 %.

Transferir una alícuota de 5 ml a un matraz volumétrico de 250 ml, diluir y aforar con etanol al 96 %. Esta solución contiene aproximadamente 12 mcg de Carbamazepina por mililitro.

Procedimiento:

Medir la absorbancia máxima de las soluciones del patrón de referencia y de la muestra a aproximadamente 295 nm de longitud de onda, en un espectrofotómetro de luz ultravioleta-visible.

CALCULOS:

Calcular el contenido de Carbamazepina $C_{15}H_{13}N_2O$ en miligramos, en la porción de muestra tomada por medio de la siguiente fórmula:

$$5 C \left(\frac{A_U}{A_S} \right)$$



Subdirección General de Obras y Abastecimiento
 Dirección de Control de Calidad

en donde: C - es la concentración en mg/ml del patrón de referencia
 A_u - es la absorbancia de la solución de la muestra
 A_s - es la absorbancia de la solución del patrón de referencia

Relacionar este resultado de acuerdo al peso tomado para el ensayo, con el peso promedio obtenido al inicio de la prueba.

5.5. TABLA DE ESPECIFICACIONES:

<u>DETERMINACION</u>	<u>ESPECIFICACION</u>	<u>INCISO</u>
Ensayo de identidad	Conforme al patrón de referencia	5.1.1.
Identidad y sustancias relacionadas	Dentro de especificación	5.1.2.
Variación de peso	Dentro de límites *	5.2.
Tiempo de desintegración	No más de 5 minutos en fluido gástrico simulado	5.3.
Valoración del principio activo	De 100 a 210 mg por tableta 95 a 100%	5.4.

* El límite se establece en la Norma IMSS de Métodos Generales para Análisis de Medicamentos correspondiente.

6. CONSERVACION:

Las tabletas de Carbamazepina deben mantenerse en recipientes bien cerrados, a temperaturas no superiores de 40°C, de preferencia a un rango de 15 a 30°C.

7. BIBLIOGRAFIA:

- USP XX, NF XV, United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville M.J., 1980, p. 115.
- British Pharmacopoeia, 1980, University Press, Cambridge England V. I p. 75 VII p. 743.

Subdirección General de Obras y Abastecimiento
Oficina de Control de Calidad

- Osol Pratt, The United States Dispensatory, 27th Edition, Lippincott Co., Philadelphia USA, 1973, p. 224.
- Asesoría del Centro de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

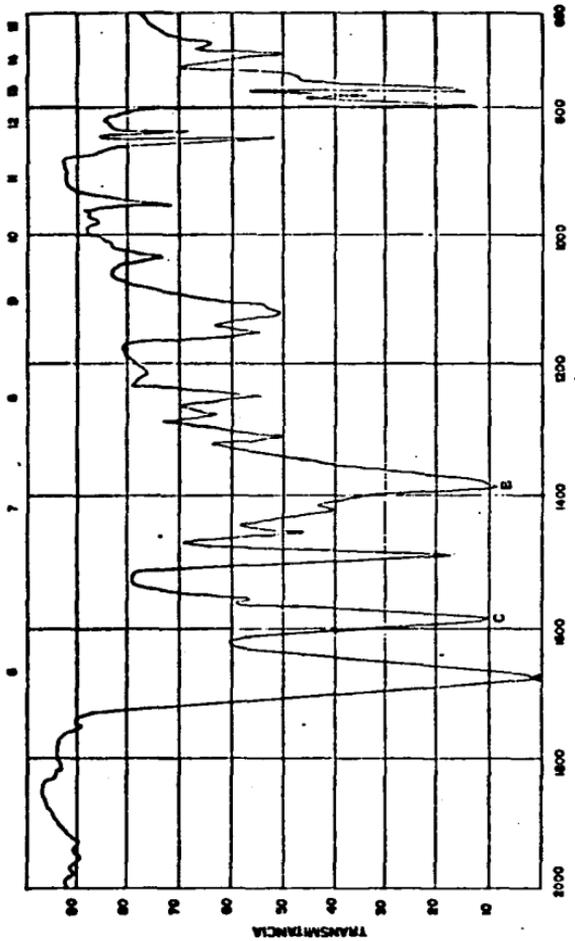
B. NORMAS A CONSULTAR:

B.1. NORMAS DE METODOS GENERALES PARA ANALISIS DE MEDICAMENTOS:

- Prueba de desintegración
- Cromatografía en capa delgada
- Variación de Peso.

'ong

LONGITUD DE ONDA EN MICRONES



NUMERO DE ONDA

CARMAZEPINA PASTILLA DE BROMURO DE POTASIO
A 1678, B 1388, C 1584

ANEXO I

Apéndice II

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SUBDIRECCION GENERAL DE ABASTECIMIENTO
JEFATURA DE CONTROL DE CALIDAD

AUTORIZACION PARA ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD

El suscrito _____
de ____ años de edad, en pleno uso de mis facultades, declaro
haber sido informado en forma amplia, clara y sin ningún tipo
de coerción, acerca de la naturaleza, objetivos y posibles -
riesgos del estudio intitulado _____

Por lo mismo, expreso libremente mi deseo de participar en di
cho estudio y otorgo el consentimiento correspondiente al in-
vestigador responsable, en la inteligencia de que conozco mi
capacidad y derecho para retirar dicho consentimiento de par-
ticipar en este estudio en el momento que yo lo deseara, sin
que ello sea seguido de ningún tipo de penalidad o coerción.

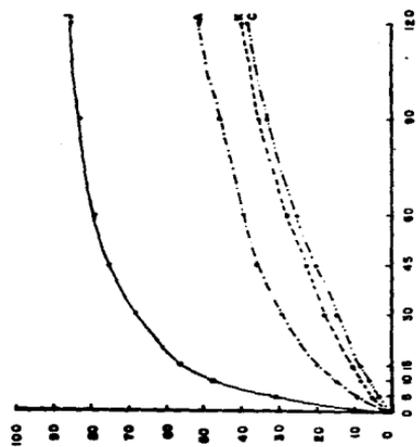
México, D.F. a _____ de _____ de _____

Nombre y firma del Voluntario
o Paciente

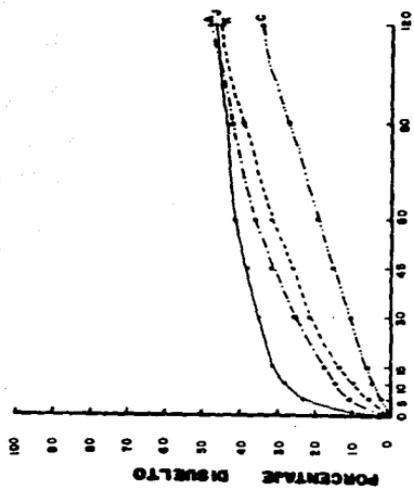
Nombre y firma del Investigador

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del Testigo



TIEMPO (min.)
b

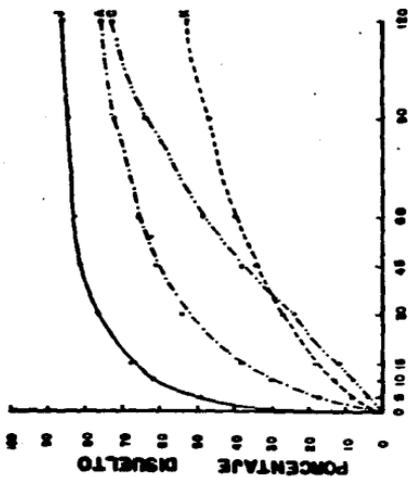


TIEMPO (min.)
g

a) Método I (NCl O.I.N; Casastinas, 100rpm.)

b) Método II (Fluido gástrico simulado/casim, tabletas 50rpm.)

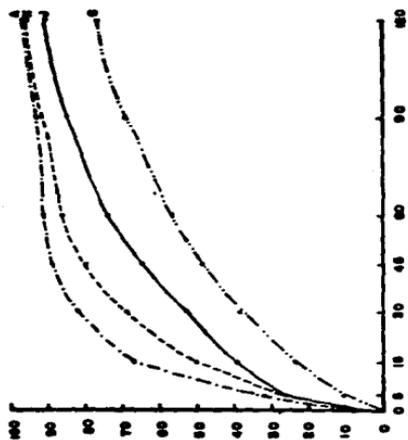
Apéndice III.- PERFIL DE DISOLUCION DE TABLETAS DE CARBAMAZEPINA DE 200mg.
INCLUIDAS EN EL ESTUDIO "in vivo"



TIEMPO (min.)
C

c) Método III (Fluido intestinal método s/casitas, pelotas, 75rpm.)

d) Método IV (Levni Sufere de Sedo al 1% p/v, pelotas, 75rpm.)



TIEMPO (min.)
d

**Apéndice III- PERFIL DE DISOLUCION DE TABLETAS DE CARBAMAZEPINA DE 200 mg.
INCLUIDAS EN EL ESTUDIO "in vivo"**

Apéndice IV

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS INDIVIDUALES EN $\mu\text{g/ml}$ OBTENIDAS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE 400 μg DE OEB EN TABLETAS.

FORMULACION K

Voluntario

Tiempo (h)	1	2	3	4	5	6	7	8
0.0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	0.9829	2.3696	0.1344	0.6322	0.9053	1.0020	0.3193	0.7099
1.0	1.0897	2.7388	0.9238	1.6262	1.2064	1.3097	0.9678	1.0789
2.0	1.8870	3.0913	2.0949	1.0823	1.9438	1.2822	1.5438	1.4006
3.0	2.6650	3.5772	2.2983	2.2349	2.7618	2.1020	1.7151	1.7696
4.0	1.9164	3.7487	2.3613	2.5745	3.6664	2.5080	1.6552	2.4900
6.0	2.4663	4.1201	2.5896	2.9690	4.0536	2.3354	2.6336	3.2622
8.0	2.6267	4.9584	2.7544	3.7329	2.8261	3.0479	2.8371	3.8296
12.0	3.0682	4.4862	2.5555	4.4779	5.3597	3.2706	3.3936	5.0294
24.0	2.7614	5.0111	3.4837	4.0731	5.3961	3.8029	4.3090	5.1540
48.0	2.5061	3.3650	2.1981	2.3227	3.1862	2.4484	2.7559	3.0178
72.0	1.7524	2.1600	1.5153	1.0307	2.2402	0.8913	1.7066	1.5366
96.0	1.2148	1.6276	0.9483	0.4474	1.2852	0.4622	0.9656	0.9496
120.0	0.5018	1.0252	0.4139	0.1836	0.6422	0.2993	0.3201	0.3419

FORMULACION C

0.0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	1.4092	0.5603	0.0138	0.0060	0.4162	-	0.8473	0.9652
1.0	2.1878	1.4701	0.0374	0.4119	2.6522	1.9978	3.3344	5.5697
2.0	2.9672	2.8622	0.3178	2.2478	3.0869	2.7052	3.4363	3.3037
3.0	3.3921	4.1354	0.9802	3.6554	5.7517	3.0908	-	4.4301
4.0	3.6822	3.7637	0.9911	5.5004	5.8109	5.4693	4.2144	5.0667
6.0	4.4717	4.5363	2.1729	5.6004	4.9161	3.5660	7.2100	5.2247
8.0	3.7905	4.3735	2.4262	5.5083	6.9415	4.2217	5.5423	4.9920
12.0	4.0713	3.7829	3.1621	5.2428	3.1094	2.9655	4.6038	5.1101
24.0	5.5156	5.1801	4.6170	5.0657	4.0199	5.9119	4.3986	5.7546
48.0	3.2157	3.7011	4.1515	2.3816	2.0191	2.6196	1.2842	2.6896
72.0	2.2292	2.6755	2.4550	1.2020	0.9094	1.5992	1.1466	1.9456
96.0	1.5329	1.8239	1.6193	0.4624	0.6575	0.6427	0.5994	1.3426
120.0	0.8126	1.2978	1.2758	0.1628	0.2467	0.5459	0.0332	0.5814

continúa...

Apéndice IV (continuación)

FORMULACION A

Voluntario

Tiempo (h)	1	2	3	4	5	6	7	8
0.0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	1.1944	0.3594	-	1.2537	2.7528	1.0565	-	2.3283
1.0	1.2496	2.4870	0.1681	2.6816	5.0172	1.8002	0.0338	4.8957
2.0	4.8777	3.0216	2.6139	5.6428	5.9936	1.3862	-	6.1883
3.0	5.4414	4.2347	3.2909	6.0060	6.0212	5.1402	3.6369	7.3883
4.0	7.0224	4.3156	3.4961	6.2275	6.2446	5.5476	4.1676	8.3222
6.0	5.8363	5.0294	4.9247	7.6743	6.3957	5.4896	5.8900	6.7540
8.0	5.4594	5.1353	4.3766	7.3147	5.7298	5.0476	6.7771	6.1728
12.0	4.1358	4.8870	4.1904	8.0738	6.2847	5.1979	5.8768	5.7635
24.0	3.7938	5.3395	3.9202	5.2541	5.5911	4.3173	3.3957	4.7662
48.0	2.7660	3.5999	3.0455	2.1385	3.4205	3.1776	2.5420	3.5700
72.0	1.5740	1.8935	2.2026	0.9690	2.5260	1.5180	1.0606	2.0631
96.0	1.4895	1.2613	1.6981	0.8666	1.0920	0.8971	0.8538	1.2009
120.0	1.0254	1.0494	0.8961	0.6315	0.7340	0.5216	0.5112	0.8378

FORMULACION J

0.0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	0.3294	2.3718	0.2327	0.5964	2.4501	0.7090	1.1477	1.1554
1.0	1.2305	4.5743	1.3219	1.8188	4.6657	-	4.5447	4.2612
2.0	2.9490	5.0044	2.7194	4.4781	5.1444	4.3987	4.7013	4.6499
3.0	4.8143	-	3.6927	-	7.3328	6.3230	5.0783	-
4.0	6.0342	6.0140	3.8621	5.5569	8.0340	7.2115	5.3455	5.1034
6.0	5.3000	6.1424	5.1621	5.6428	7.1333	6.1562	5.4805	6.8728
8.0	4.8904	5.6663	-	5.7412	7.1195	5.6696	5.6909	5.4390
12.0	4.1891	5.0383	4.3961	4.5130	6.0745	7.7187	6.1313	5.1507
24.0	6.2010	4.4875	4.2163	3.9436	5.1809	5.4755	2.7654	4.8952
48.0	4.0595	3.4983	2.2256	2.3389	3.2476	3.5671	1.6671	3.9951
72.0	2.3472	3.0121	1.4518	1.1229	2.5305	2.5298	1.1160	2.7712
96.0	1.9205	2.0247	0.7456	0.9131	1.5913	1.3401	0.8030	1.8632
120.0	0.9021	1.6098	0.4177	0.5415	0.7397	0.9109	0.5101	0.9485

Apéndice V

PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS INDIVIDUALES OBTENIDOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE 400 mg DE CEZ EN TABLETAS

FORMULACION K

Voluntario	Modelo	Ka (h ⁻¹)	t lag (h)	Kd (h ⁻¹)	t 1/2 (h)	tmax (h)	Cmax (ug/ml)	ABC c ¹⁰ (ug/ml.h)	F (%)
1	MAUC	0.2011	0.000	0.0129	53.7210	12	3.0662	224.9355	
2	"			0.0167	41.4970	8	4.9584	348.7000	
						24	5.0111		
3	"			0.0218	31.7889	8	2.7544	223.0698	
						24	3.4837		
4	MAUC	0.1030	0.000	0.0347	19.9711	12	4.4779	229.4243	
5	MAUC	0.1333	0.000	0.0212	32.6886	24	5.3961	339.9403	
6	MAUC	0.1222	0.000	0.0272	25.4779	24	3.8029	212.8981	
7	MAUC	0.1241	0.000	0.0170	40.7647	24	4.3090	266.7319	
8	MAUC	0.0787	4.796	0.0332	20.8734	24	5.1540	294.9285	

FORMULACION C

1	"			0.0170	40.7647	6	4.4717	343.6119	152.7601
						24	5.5156		
2	"			0.0145	47.7931	6	4.5363	335.3511	96.1713
						24	5.1801		
3	MAUC	0.5930	8.728	0.0202	34.3069	24	4.6170	320.9261	143.8680
4	MAUC	0.3283	0.404	0.0254	27.2834	6	5.6004	274.2525	119.5394
5	"			0.0262	26.4503	8	6.9415	256.6324	76.0817
						24	4.0199		
6	"			0.0222	31.2162	8	4.2267	255.1469	119.5394
						24	3.9119		
7	MAUC	0.3666	0.000	0.0139	49.8561	6	7.2100	236.6978	88.7399
8	"			0.0198	35.0000	6	5.2247	329.1075	111.5889
						24	5.7545		

continúa...

Apéndice V (continuación)

FORMULACION A

Volun- tario	Modelo	k_a (h^{-1})	t_{lag} (h)	k_{12} (h^{-1})	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{pmax} ($\mu g/ml$)	ABC^{10} ($\mu g/ml \cdot h$)	F (%)
1	MADC	0.4859	2.271	$\begin{matrix} 0.0127 \\ 0.3367 \end{matrix}$	54.5660	4	7.0224	304.1529	135.2178
2	"			0.0206	33.6407	8 24	5.1353 5.3795	351.1512	100.7029
3	MAUC	0.5648	0.832	0.0123	56.3414	6	4.9247	315.7710	141.5570
4	"			0.0214	32.3831	6 12	7.6743 8.0738	323.0414	140.8052
5	"			0.0198	35.0000	6	6.3957	363.2440	106.8552
6	MAUC	0.3893	0.249	0.0195	35.5384	4	5.5476	301.6031	141.6654
7	MADC	0.3207	0.671	$\begin{matrix} 0.0203 \\ 0.0787 \end{matrix}$	34.1379	8	6.7771	266.5630	99.9366
8	MAUC	1.3482	0.230	0.0181	38.2872	4	8.3222	363.0149	123.0857

FORMULACION J

1	"			0.0189	36.6666	4 24	6.0343 6.2010	381.8105	169.7422
2	MAUC	1.3643	0.200	0.0111	62.4320	6	6.1424	354.7935	101.7479
3	MAUC	0.1119	0.000	0.0201	34.4776	6	5.1621	253.0375	113.4342
4	MAUC	0.7305	0.473	0.0224	30.9375	8	5.7412	284.9695	124.2106
5	MAUC	0.5414	0.000	0.0185	37.4594	4	8.0340	386.5316	113.7057
6	"			0.0190	36.4736	4 12	7.2115 7.7187	375.2069	176.2377
7	MAUC	2.7889	0.430	0.0234	29.6154	12	5.1313	241.8830	90.6839
8	MAUC	1.9530	0.336	0.0142	48.8028	6	6.8728	382.0737	129.5479

* Perfil farmacocinético con el fenómeno del "doble pico" y cuyos datos fueron analizados únicamente en la porción lineal terminal suponiendo un MAUC.

1

Valor de la constante de eliminación.

2

Valor de la constante de distribución.

Capitulo 8. BIBLIOGRAFIA

- Alache, J. M.: Biofarmacia. 2a. ed., México, El Manual Moderno. 1983; Pág. 153.
- Aboul-Enein, H. Y.; Al-Badr, A. A.: Carbamazepine. En: Florey, K. (editor): Analytical profiles of drug substances. Vol. 9. New York, Academic Press. 1980. Pág. 87-106.
- Adams, R.; Schmidt, G. L.; Vandemark, F. L.: A micro liquid column chromatography procedure for twelve anticonvulsants and some of their metabolites. *J. Chromat.*, 1978; 145: 275-284.
- Astier, A.; Maury, M.: Simultaneous rapid high performance liquid chromatographic microanalysis of plasma carbamazepine and its 10, 11-epoxide metabolite. *J. Chromat.*, 1979; 164: 235-240.
- Bertilsson, L.; Hojer, B.; Tybring, G.; Osterloh, J.; Rane, A.: Autoinduction of carbamazepine metabolism in children examined by a stable isotope technique. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1980; 27: 83-88.
- Boer, Y.: Guidelines for dissolution testing of solid oral products. *Drugs made in Germany*, 1981; 24: 90-105.
- Boldy, D. A.; Heath, A.; Ruddock, S.; et al.: Activated charcoal for carbamazepine poisoning. *The Lancet*, 1987; May 2: i027.
- Bouche, R.: Le polymorphisme: sa detection et son incidence sur la dissolution. *Sci. Techn. Pharm.*, 1985; 8: 288-295.
- Brown, R. D.; Manno, J. E.: ESTRIP A BASIC. Computer program for obtaining initial polyexponential parameters estimates. *J. Pharm. Sci.*, 1978; 67: 1687-1691.
- Burke, J. T.; Thénot, J. P.: Determination of antiepileptic drugs. *J. Chromat.*, 1985; 340: 199-241.
- Cabana, B. E.: "in vivo" predictability of "in vitro" dissolution. National Center for Drugs and Biologics. Food and Drug Administration, Rockville, Maryland. Presentado en The 15th Annual Industrial Pharmacy Management Conference, Wisconsin Pharmaceutical Association, Madison, Wisconsin, October 27, 1982.
- Chan, K. K.; Sawchuk, R. J.; Thompson, T. A.; et al.: Bioequivalence of carbamazepine chewable and conventional tablets: single-dose and steady-state studies. *J. Pharm. Sc.*, 1985; 74: 866-870.
- Ciba-Geigy: Tegretol, Carbamazepine USP. *Am. J. H. Ph.* 1987; 44: 1989-1991.

- Clarke, E. G. C. (editor): Isolation and Identification of Drugs. London, The Pharmaceutical Press, 1969. Pág. 238.
- Colburn, W. A.: Pharmacokinetic and biopharmaceutic parameters during enterohepatic circulation of drugs. *J. Pharm. Sci.*, 1982, 71: 131-133
- Cuadro Básico de Medicamentos del Sector Salud. México. Consejo de Salud Pública General. Comisión Interinstitucional del Cuadro Básico de Insumos del Sector Salud. 1984. Pág. 337.
- Datos no publicados, Ise, Ch., Deputy Director, Division of Bioequivalence. Food and Drug Administration, Rockville, August 4, 1987.
- Dakkuri, A.; Shah, A.: Dissolution methodology: an overview. *Pharmaceutical Technology*, 1982; June: 28-47.
- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 32a. ed. México, Ediciones P.L.M. 1986. Pág. 822.
- Eichelbaum, M.; Bertilsson, L.: Determination of carbamazepine and its epoxide metabolite in plasma by high-speed liquid chromatography. *J. Chromat.*, 1975; 103: 135-140.
- Eichelbaum, M.; Kothe, K. W.; Hoffman, F.; Von Unruh, G. E.: Kinetics and metabolism of carbamazepine during combined antiepileptic drug therapy. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1979; 26: 366-371.
- Elyas, A. A.; Ratnaraj, N.; et al.: Routine monitoring of carbamazepine and carbamazepine-10, 11-epoxide in plasma by high-performance liquid chromatography using 10-methoxycarbamazepine as internal standard. *J. Chromat.*, 1982; 231: 93-101.
- Ezquer, J.; Borell, M.C.; Alos, M.; et al.: Monitorización de antiepilepticos: carbamazepina. *Revista A.E.F.H.*, 1984; 1: 23-30.
- Furlanut, M.; Montanari, G.; Bonin, P.; Casara, G. L.: Carbamazepine and carbamazepine-10, 11-epoxide serum concentrations in epileptic children. *J. Pediatrics*, 1985; 106: 491-496.
- Gerardin, A. P.; Abadie, F. V.; Campestrini, J. A.; Theobald, W.: Pharmacokinetics of carbamazepine in normal humans after single and repeated oral doses. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 1976; 4: 521-535.
- Graves, N. M.; Kriel, R. L.; Jones-Saete, C.; Cloyd, J. C.: Relative bioavailability of rectally administered carbamazepine suspension in humans. *Epilepsia*, 1985; 26: 429-433.

- Hanson, W. A.: Handbook of dissolution testing. Oregon, Pharmaceutical Technology Publications, 1982. Págs. 1-11.
- Hartley, R.; Luccock, M.; et al.: High performance liquid chromatographic determination of carbamazepine and carbamazepine 10, 11-epoxide in plasma and saliva following solid-phase sample extraction. *J. Chromat.*, 1986; 380: 347-356.
- Herrera, J. M.; Sramek, J. J.; Costa, J. F.: Efficacy of adjunctive carbamazepine in the treatment of chronic schizophrenia. *Drug Intell. Clin. Pharm.*, 1987; 21: 355-358.
- Hewlett-Packard, Software of HP 9000 Series 200. Statistical library HP 98820A. Regression analysis No. 98820-13318, 1984.
- Hockings, N.; Pall, A.: The effects of age on carbamazepine pharmacokinetics and adverse effects. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1986; 22: 725-728.
- Hooper, W. D.; Dubetz, D. K.; Bochner, F.; et al.: Plasma protein binding of carbamazepine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1975; 17: 433-440.
- Hoppener, R. J.; Kuyser, A.; Meijer, J. A.; Hulsman, J.: Correlation between daily fluctuations of carbamazepine serum levels and intermittent side effects. *Epilepsia*. 1980; 21: 341-350.
- Hvidberg, E. F.; Dam, M.: Clinical pharmacokinetics of anticonvulsants. *Clin. Pharm.*, 1976; 1: 161-188.
- Jones, G. L.; Amato, R. J.; Wimbish, G. H.; et al.: Comparison of anticonvulsant potencies of cyheptamide, carbamazepine, and phenytoin. *J. Pharm. Sci.*, 1981; 70: 618-620.
- Kabra, P. M.; Marton, L. J.: Determination of carbamazepine in blood or plasma by high-pressure liquid chromatography. *Clin. Chem.*, 1976; 22: 1070-1072.
- Kahela, P.; Aaltonen, R.; Lewing, E.; et al.: Pharmacokinetics and dissolution of two crystalline forms of carbamazepine. *Int. J. Pharm.*, 1983; 14: 103-112.
- Kaneniwa, N.; Yamaguchi, T.; Watari, N.; Otsuka, M.: Hygroscopicity of carbamazepine crystalline powders. *Yakugaku Zasshi*, 1984; 104: 184-190.
- Kastrup, E. K. (editor): Drug facts and comparisons. St. Louis Missouri, Facts and Comparisons Division J. B. Lippincott Co. 1984. Págs. 1088-1090.
- Kenneth, S. A.: Drug absorption and disposition: Statistical considerations. Washington, American Pharmaceutical Association, 1980. Págs. 1-14.

- Kuhn, S.: Determinación fluorimétrica de carbamazepina. *II farmaco*, 1982; XXXVII: 296-303.
- Kutt, H.: Clinical pharmacology of carbamazepine. En: Pippenger, C. E.; Penry, J. K.; Kutt, H.: *Antiepileptic drugs: Analysis and interpretation*. New York, Raven Press, 1978. Pág. 297:321.
- Laine, E.; Tuominen, V.; Ilvessalo, P.; Kahela, P.: Formation of dihydrate from carbamazepine anhydrate in aqueous conditions. *Int. J. Pharm.* 1984, 20, 307-314.
- La Marca, L. A. (editor): *Guidelines for carbamazepine bioavailability/bioequivalence studies. Quality Control Reports "The Gold Sheet"*, Chevy Chase, Md., 1984, 16: 5.
- Leeson, L. J.; Carstensen, J. T.: *Dissolution Technology, The industrial pharmaceutical sciences*. Washington, 1974. Pág. 106-146, 163-186.
- Levy, R. H.; Pitlick, W. H.; Troupin, A. S.; Green, J. R.; Neal, J. M.: Pharmacokinetics of carbamazepine in normal man. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1975; 17:657-668.
- Lewis, A. J. (editor): *Modern Drug Encyclopedia and Therapeutic Index*. 16th ed. New York, Yorke Medical Books, 1981. Pág. 138-140.
- Martindale. *The Extra Pharmacopoeia*. 28th ed. London, The Pharmaceutical Press, 1982. Pág. 1245-1248.
- Mc. Kichan, J. J.: Simultaneous liquid chromatography analysis for carbamazepine and carbamazepine-10, 11-epoxide in plasma and saliva by use of double internal standarization. *J. Chromat.*, 1980; 181: 373-383.
- McNamara, P. J.; Colburn, W. A.; Gibaldi, M.: Time course of carbamazepine self-induction. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 1979; 7: 63-68.
- Montgomery, D. C.: *Design and analysis of experiments*. 2nd ed. New York, John Wiley and Sons, 1984. Pág. 64-66.
- Montoya-Cabrera, M. A.; Sánchez-Suárez, B. A.; Hernández-Zamora, A.; et al: Tratamiento de la intoxicación aguda por carbamazepina conforme a sus propiedades farmacológicas. Informe preliminar. *Arch. Invest. Med. IMSS*, 1980; 11: 417-422.
- Morselli, P.L.; Gerna, M.; Garattini, S.: Carbamazepine plasma and tissue levels in the rat. *Bioch. Pharm.*, 1971; 20: 2043-2047.
- Morselli, P. L.; Monaco, F.; Gerna, M.; et al.: Bioavailability of two carbamazepine preparations during chronic administration to epileptic patients. *Epilepsia*, 1975; 16: 759-764.

- Neuvonen, P. J.: Bioavailability and central side effects of different carbamazepine tablets. *Int. J. Clin. Pharmac. Ther. Tox.*, 1985; 23: 226-232.
- Neuvonen, P. T.; Tokola, O.: Bioavailability of rectally administered carbamazepine mixture. *Br. J. Clin. Pharmac.*, 1987; 24: 839-841.
- Oberle, R.; Amidon, G.: The influence of variable gastric emptying and intestinal transit rates on the plasma level curve of cimetidine; an explanation for the double peak phenomenon. *J. Pharmacok. Biopharm.*, 1987; 15: 529-543.
- Pedersen, P.; Miller, R.: Pharmacokinetics and bioavailability of cimetidine in humans. *J. Pharm. Sci.*, 1980; 69: 394-398.
- Plusquellec, I.: A double-peak phenomenon in the pharmacokinetics of veralipride after oral administration: A double-site model for drug absorption. *J. Pharmacok. Biopharm.*, 1987; 15: 225-239.
- Pynnönen, S.; Mantyla, R.; Iisalo, E.: Bioavailability of four different pharmaceutical preparations of carbamazepine. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 1978; 43: 306-310.
- Rall, T. W. and Shleifer, L. S.: Drug effective in the therapy of the epilepsies. En: Gilman, A. G.; Goodman, L. S.; Gilman, A.: *Pharmacological basis of therapeutics*. 7th ed. New York, Mc. Millan Publishing Co. 1985. Pàg. 446-472.
- Rane, A.; Hojer, B.; Wilson, T.: Kinetics of carbamazepine and its 10, 11-epoxide metabolite en children. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1976; 19: 276-283.
- Riad, L. E.; Chan, K. K.; Wagner, W. E.; et al.: Simultaneous first- and zero- order absorption of carbamazepine tablets in humans. *J. Pharm. Sci.*, 1986; 75: 897-900.
- Riva, R.; Contin, M.; Albani, F.; et al.: Free and total serum concentrations of carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide infancy and childhood. *Epilepsia*, 1985; 26: 320-322.
- Sachdeo, R. C.; Belenduk, G.: Generic versus branded carbamazepine. *The Lancet*, 1987; June 20: 1432.
- Sadee, W.; Beelen, G.: *Drug level monitoring*. New York, A Wiley-Interscience Publication. John Wiley and Sons. 1980.. Pàg. 162-167.
- Sawchuk, R. J.; Cartier, L. L.: Simultaneous liquid-chromatographic determination of carbamazepine and its epoxide metabolite in plasma. *Clin. Chem.*, 1982; 28: 2127-2130.

Smith, R. V. and Stewart, J. T.: Textbook of Biopharmaceutic Analysis. Philadelphia, Lea and Febiger, 1981. Pàg. 135.

Strandjord, R. E.; Johannessen, S. I.: Single-drug therapy with carbamazepine in patients with epilepsy: serum levels and clinical effect. *Epilepsia*, 1980; 21: 655-662.

Suplemento I. USP XXI, NF XVI. Washington, D. C. USA. United States Pharmacopeial Convention, Inc. 1986. Pàg. 1707.

Swarbrick, J.: Current concepts in the pharmaceutical sciences: biopharmaceutics. Philadelphia, Lea and Febiger. 1979. Pàg. 267-294.

Szabo, G. K.; and Browne, T. R.: Improved isocratic liquid-chromatographic simultaneous measurement of phenytoin, phenobarbital, primidone, carbamazepine, ethosuximide, and N-Desmethylnmethosuximide in serum. *Clin. Chem.*, 1982; 28: 100-104.

The United States Pharmacopeia. USP XXI, 25th revision. Washington, D.C. USA. United States Pharmacopeial Convention, Inc. 1985. Pàg. 156-157, 1242-1243, 1277-1278, 1424.

Tomson, T.; Tybring, G.; Bertilsson, L.: Single-dose kinetics and metabolism of carbamazepine-10, 11-epoxide. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1983; 33: 58-65.

Tomson, T.; Eichelbaum, M.; Tybring, G.; Bertilsson, L.: Carbamazepine metabolism in man. Influence of auto and hetero-induction on some different oxidative pathways. *Acta Neurol. Scand.*, 1984; 69: 85-86.

Tomson, T.; Bertilsson, L.: Side-effects of carbamazepine: drug or metabolite?. *The Lancet*, 1985; November 2, 1010.

Vaughan, D. P.; Tucner, G. T.: An analysis of the applications of dissolution efficiency. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1976; 28: 932-933.

Venho, V. M.; Eriksson, H.: The rabbit: an animal model for comparative bioavailability studies of drugs. *Int. J. Pharm.*, 1986; 30: 91-94.

Wad, N.: Simultaneous determination of eleven antiepileptic compounds in serum by high-performance liquid chromatography. *J. Chromat.*, 1984; 305: 127-133.

Wagner, J.: Fundamentals of clinical pharmacokinetics. 2nd. ed. Hamilton, Ill., Drug Intelligence Publications; Hamilton Press, 1975; Pàg. 285-301.

Westenberg, H.; and Zeew, R. A.: Rapid and sensitive liquid chromatography determination of carbamazepine suitable for use in monitoring multiple-drug anticonvulsant therapy. *J. Chromat.*, 1976; 118: 217:224.

Westenberg, H. G.; Van der Kleijn, E.; Oei, T. T.; Zeew, R. A.: Kinetics of carbamazepine and carbamazepine-epoxide determined by use of plasma and saliva. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1978; 23: 320-328.

Worley, P. F.; Baraban, J. M.: Site of anticonvulsant action on sodium channels: Autoradiographic and electrophysiological studies in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987; 84: 3051-3055.

Yamaoka, K.; Nakagawa, T.: Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetics equations. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 1978a; 6: 165-175.

Yamaoka, K.; Nakagawa, T.; Uno, T.: Statistical moments in Pharmacokinetics. *J. Pharmacokin. Biopharm.*, 1978b; 6: 547-558.