

20
2 ej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"



EFFECTO DEL PH EN LA VELOCIDAD DE DISOLUCION PARA TABLETAS DE CLOROPROPAMIDA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

MARIA REINA HERNANDEZ NAJERA



Director de Tesis: Q. F. B. Guadalupe Lucía Yañez V.
Asesor de Tesis: Q. F. B. Virginia Angélica Robinson F.

FALLA DE ORIGEN



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.

CONTENIDO

Hoja.

Lista de tablas	iii
Lista de gráficas	V
Lista de figuras	V
Capítulo I.	
1.1 Introducción	1
1.2 Objetivos	3
Capítulo II.	
Generalidades	
2.1 Disolución	4
2.2 Biodisponibilidad y Bioequivalencia	9
2.3 Cloropropamida	
2.3.1 Propiedades Fisicoquímicas	10
2.3.2 Conservación	11
2.3.3 Propiedades Físicas	11
2.3.4 Propiedades Farmacológicas	12
Capítulo III.	
Parte Experimental	
3.1 Equipo y Reactivos	14
3.2 Metodología general	14
3.2.1 Estudio de disolución	
3.3 Método de cuantificación de la cloropropamida en las muestras de disolución.	16
3.3.1 Preparación de la solución patrón de referencia de cloropropamida.	
3.4 Validación del método de cuantificación en la prueba de disolución para tabletas de cloropropamida.	16

3.4.1 Linearidad del sistema	Hoja.
3.4.2 Linearidad del método	
3.4.3 Precisión y exactitud del método	
3.4.4 Reproducibilidad	
3.4.5 Estabilidad de la muestra	

Capítulo IV.

Resultados

4.1 Metodología general	
Control de Calidad	18
4.2 Estudio de disolución	
Prueba de disolución	19
Perfiles de disolución	27
4.3 Determinación de modelo	30
4.4 Validación del método de cuantificación en la prueba de disolución para table - tas de cloropropamida	36
4.4.1 Linearidad del sistema	37
4.4.2 Linearidad del método	40
4.4.3 Precisión y exactitud del método	43
4.4.4 Reproducibilidad	44
4.4.5 Estabilidad de la muestra	45

Capítulo V.

Análisis de Resultados	48
5.1 Características de Control de Calidad	
5.2 Estudio de disolución	
5.3 Determinación de modelo	
5.4 Validación	

Capítulo VI.

Conclusiones	53
--------------	----

Capítulo VII.

Bibliografía	54
--------------	----

LISTA DE TABLAS

Hoja.

I.	Resultados del análisis de Control de Calidad para el principio activo de Cloropropamida.	18
Ia.	Resultados del análisis de Control de Calidad para los tres lotes de tabletas de cloropropamida.	19
II.	ANOVA para tratamientos (pH) y bloques (lotes)	21
III.	Resultados promedio (n=6) obtenidos con el tratamiento correspondiente de datos para tabletas de cloropropamida del lote 7F0943 a diferentes pH (% Disuelto, mg disueltos, cantidad remanente, fracción liberada, ecuación de Hixon-Crowell y de ler. orden).	
	IIIa. pH 1.2 ; IIIb. pH 3.5 ; IIIc. pH 5.8 ; IIId. pH 6.8 ; IIIe. pH 7.0 ; IIIf. pH 8.0 ; IIIg. pH 9.0 ; IIIh. pH 10.0.	22
IV.	Resultados promedio (n=6) obtenidos con el tratamiento correspondiente de datos para tabletas de cloropropamida del lote 7F0944 a diferentes pH (% Disuelto, mg disueltos, cantidad remanente, fracción liberada, ecuación de Hixon-Crowell y de ler. orden).	
	IVa. pH 1.2 ; IVb. pH 3.5 ; IVc. pH 5.8 ; IVd. pH 6.8 ; IVe. pH 7.0 ; IVf. pH 8.0 ; IVg. pH 9.0 ; IVh. pH 10.0.	24
V.	Resultados promedio (n=6) obtenidos con el tratamiento correspondiente de datos para tabletas de cloropropamida del lote 7F0952 a diferentes pH (% Disuelto, mg disueltos, cantidad remanente, fracción liberada, ecuación de Hixon-Crowell y de ler. orden).	

LISTA DE TABLAS (CONTINUACION)

Hoja.

Va. pH 1.2 ; Vb. pH 3.5 ; Vc. pH 5.8 ; Vd. pH 6.8 ; Ve. pH 7.0 ; Vf. pH 8.0 ; Vg. pH 9.0 ; Vh. pH 10.0.	26
VI. Constantes (De Hixon-Crowell, de liberación) en función del pH para los tres lotes.	34
VII. Absorbancia en función de la concentración mcg/ml para la linealidad del sistema.	38
VIII. Porcentaje determinado en función del porcie- to adicionado, para la linealidad del método.	41
IX. Porcentaje de recobro de diez determinaciones para la precisión y exactitud del método.	44
X. Resultados de la reproducibilidad del método.	45
Xa. ANOVA para los resultados de la reproducibili- dad de método.	45

LISTA DE GRAFICAS

Hoja.

I.	Porcentaje disuelto para tabletas de cloropropamida a los 60 minutos en función del pH.	20
II.	Perfil de disolución para tabletas de cloropropamida del lote 7F0943 a diferentes pH.	28
III.	Perfil de disolución para tabletas de cloropropamida del lote 7F0944 a diferentes pH.	29
IV.	Perfil de disolución para tabletas de cloropropamida del lote 7F0952 a diferentes pH.	30
V.	Del modelo de la raíz cúbica de Hixon-Crowell (1-ft) ³ en función del tiempo del lote 7F0943 para tabletas de cloropropamida.	31
VI.	Del modelo de la raíz cúbica de Hixon-Crowell (1-ft) ³ en función del tiempo del lote 7F0944 para tabletas de cloropropamida.	32
VII.	Del modelo de la raíz cúbica de Hixon-Crowell (1-ft) ³ en función del tiempo del lote 7F0952 para tabletas de cloropropamida.	33
VIII.	Constante de Hixon-Crowell en función del pH.	35
IX.	Constante de liberación en función del pH.	36
X.	Curva para la linealidad del sistema. Absorbancia en función de la concentración mcg/ml.	39
XI.	Curva para la linealidad del método. %determinado en función del % adicionado.	42
XII.	Resultados de la estabilidad de la muestra de cloropropamida.	47

LISTA DE FIGURAS

1.	Proceso implicado en la disolución de formas sólidas de dosificación después de la administración oral propuesta por Wagner.	4
2.	Modelo de la teoría de la película.	5

Capítulo I

1.1 Introducción.

Cuando se llevan a cabo las diversas pruebas de estabilidad y control de calidad que deben cumplir los medicamentos, se está asegurando no sólo el contenido químico y la presentación física, sino también, el que el fármaco contenido en la forma farmacéutica alcance su sitio de acción y el efecto terapéutico deseado.

Es importante que, para que los fármacos puedan ejercer su acción se absorban de manera adecuada y para poder absorberse, el fármaco debe encontrarse en solución en el sitio de absorción. Por lo tanto, aquellos fármacos que vayan en formas farmacéuticas sólidas deberán primero disolverse para poder ser absorbidos al torrente sanguíneo. La velocidad de absorción de las formas sólidas está determinada por las propiedades fisicoquímicas del fármaco y por un número variable de factores fisiológicos y anatómicos. Así, cualquier elemento que altere la velocidad de disolución, tendrá una influencia notable en la velocidad de absorción y dependiendo del caso, en su biodisponibilidad.

Se sabe que la cloropropamida es un derivado sulfonilúreico de origen sintético, el cual es un agente hipoglucemiante activo oral, se utiliza en el control de la diabetes Mellitus suave, sin acetoacidosis y sin antecedentes de disfunción hepática o renal. Presenta una mayor potencia que la tolbutamida, tolgamida y acetohexamida.

Con lo anteriormente citado podemos darnos cuenta de la importancia de la cloropropamida, por lo que en el presente trabajo se evaluó el efecto del pH en la velocidad de disolución para tabletas de cloropropamida. Debido a que en la prueba de disolución cuando se emplea el medio de disolución agua que corresponde a la USP XXI (1) y el medio de disolución buffer de pH = 6.8 que corresponde a la BP (2) para este

producto, el % disuelto es considerablemente más alto en este último medio, pasando la prueba de disolución, no haciéndolo con el medio de disolución agua.

1.2 Objetivos

- **Determinar la velocidad de disolución para tabletas de cloropropamida en función del pH.**

- **Validar el método de cuantificación en la prueba de disolución para tabletas de cloropropamida.**

2.1 Disolución.

La disolución es la pérdida de la cohesión de un sólido bajo la acción de un líquido, que conduce a la dispersión homogénea en estado molecular o iónico (3).

La forma más simple de un modelo de disolución de un sólido en un medio disolvente, es aquel de una sola partícula esférica que se disuelve en un gran volumen de fluido.

La figura No. 1 muestra el proceso implicado en la disolución de formas sólidas de dosificación después de la administración oral propuesto por Wagner (4).

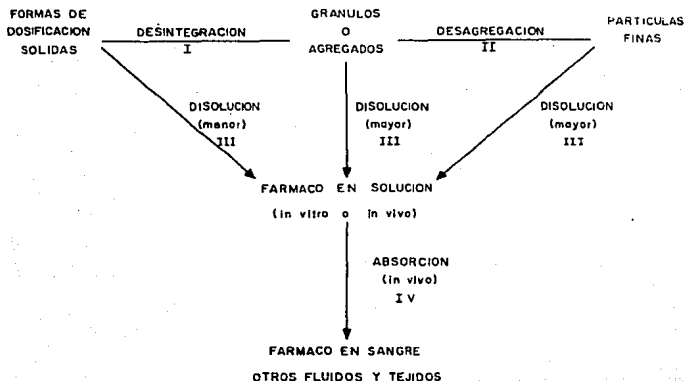


FIG. No. 1 Cuando el proceso III es mucho más lento que los procesos I, II y IV entonces la disolución controla completamente el grado de absorción. Se dice que la velocidad de disolución está limitada.

La mas temprana referencia de disolución es probablemente la de Noyes y Whitney (5) quienes desarrollaron la relación matemática que correlaciona la velocidad de disolución con el gradiente de solubilidad del sólido, su trabajo se concentró en el estudio de los aspectos fisicoquímicos de la disolución. Su ecuación es todavía fórmula básica sobre la cual giran los tratados matemáticos modernos sobre el fenómeno de la disolución.

La ecuación de Noyes y Whitney es la siguiente:

Dónde:

dc/dt = Velocidad de disolución del fármaco.

$$\frac{dc}{dt} = K (C_s - C_t)$$

K = Constante de proporcionalidad o de disolución.

C_s = Concentración de saturación.

C_t = Concentración a un tiempo t .

Existen tres teorías que explican el proceso de disolución (b).

1.- TEORIA DE LA PELICULA O DE LA CAPA ESTACIONARIA.

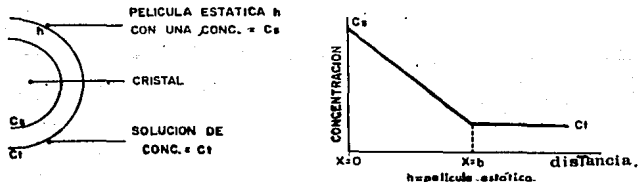


FIG. No. 2 Modelo de la Teoría de la película

Se considera un sólido sumergido en un líquido con agitación y el sólido se deja disolver. Se dan dos pasos consecutivos, primero la solución del sólido a nivel de interfase que forma una delgada capa estática o película alrededor de la partícula y segundo, la difusión desde esta capa a nivel del límite hacia el cuerpo del líquido. El primer paso, la solución es casi instantáneo, el segundo, la difusión es mucho más lento y por lo tanto, es el paso limitante. Se considera que la concentración de la sustancia en la superficie del cristal es igual a la concentración de saturación y por ser un estado estacionario se puede aplicar la primera ley de Fick de difusión a la ecuación de Noyes y Whitney por parte de Nernst y Brunner (7). Ver fig. 2.

La ecuación de Nernst y Brunner es la siguiente:

Dónde:

$\frac{dw}{dt}$ = Es la velocidad de disolución
(masa/tiempo).

$$\frac{dw}{dt} = \frac{DS}{h} (C_s - C_t)$$

D = Coeficiente de difusión.

h = El grosor de la capa estática de difusión.

S = Area superficial del soluto.

Desarrollando también la ley de la raíz cúbica de la disolución por parte de Hixon y Crowell, calcularon la variación de la superficie de las partículas en función de la variación de su tamaño; comparando las partículas con esferas y transformando previamente los volúmenes en unidades de masa (8).

La ecuación de Hixon y Crowell es la siguiente:

Dónde:

W_0 = Cantidad inicial.

W = Cantidad remanente.

K = Constante de Hixon y Crowell.

t = tiempo.

$$W_0^{1/3} - W^{1/3} = Kt$$

2.- TEORIA DE LA PENETRACION O DE LA RENOVACION DE SUPERFICIE.

En el caso en que la velocidad de disolución en la superficie sea relativamente lenta, limita la velocidad de difusión y por consiguiente la concentración en la interfase será menor que la concentración de saturación. Esto hizo que Danckwerts (9), descartara la posibilidad de la existencia de una capa de difusión estacionaria. Consideró que la turbulencia (producida por la agitación o movimiento espontáneo de moléculas en el fluido) se extiende a la superficie y que no existe una capa limitante alrededor. En su lugar supuso que la superficie era renovada continuamente siendo reemplazado con un nuevo líquido en contacto con el sólido, basándose en que las moléculas deben solvatare y que la difusión del solvente del resto de la solución a través de la capa estacionaria a la superficie es el paso limitante.

Niebergall y Goyas (10) demostraron que la ley de la raíz cúbica no puede ser aplicada cuando se dan las condiciones de liberación de modelo de Danckwerts puesto que se trataría de una circulación turbulenta del líquido en contacto con el sólido.

Toor Marchelo (11) enfatizó que las teorías de la película y de renovación de superficie no son aspectos separados. Es decir que la teoría de la renovación se aplica hasta que en un momento dado se establece un estado estacionario y entonces la teoría de la película sería aplicable.

3.- TEORIA DE LA VELOCIDAD DE SOLVATACION LIMITADA (12).

Es una consecuencia de la segunda ley de Fick (13) que postula que la velocidad de cambio de concentración en cualquier plano perpendicular a la dirección de difusión es proporcional a la velocidad de cambio de gradiente de concentración.

La segunda ley de Fick es la siguiente:

Dónde:

dc/dt = Velocidad de disolución.

D = Coeficiente de difusión.

C = Concentración.

X = Distancia.

$$\frac{dc}{dt} = D \frac{d^2C}{dX^2}$$

Ecuación que representa la difusión solamente en una dirección X. Para expresar el cambio de concentración en las tres dimensiones la segunda ley de Fick se escribiría como:

$$\frac{dc}{dt} = D \left(\frac{d^2C}{dX^2} + \frac{d^2C}{dY^2} + \frac{d^2C}{dZ^2} \right)$$

La teoría de la película y la teoría de la renovación suponen que el coeficiente de difusión es constante aunque según los trabajos de Nedich y Kildsig (12) esto no es siempre cierto, estos autores demostraron que el coeficiente de difusión puede disminuir cuando la concentración de la solución aumenta, sobre todo en presencia de agentes que aumentan la viscosidad (pectina, derivados de celulosa, entre otros).

Prueba de disolución.

La prueba de disolución se considera hoy un parámetro de gran ayuda a la industria farmacéutica para el control de Calidad y el desarrollo de nuevos productos. Esta prueba "in vitro" puede ser un predictor válido de bioequivalencia (14).

Los objetivos fundamentales de la prueba de disolución son:

- Procedimiento sensible de Control de Calidad, cuando la correlación de los datos "in vitro" e "in vivo" ha sido establecida.
- Facilitar la selección de varias formulaciones preliminares a las cuales se les harán estudios preclínicos, probándose así la eficiencia de las formulaciones.

- Estudiar la liberación en las formas dosificadas sólidas.

Se debe considerar que la liberación "in vitro" de un fármaco no necesariamente refleja la velocidad de absorción. Se ha demostrado que la cinética de disolución de una sustancia depende de numerosos factores (3), (4) y (15). Los cuales se han dividido en cuatro grupos.

- I.- Factores ambientales durante la disolución.
- II.- Factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco.
- III.- Factores relacionados con la composición y métodos de manufactura.
- IV.- Factores ambientales involucrados en la forma farmacéutica.

Para determinar la velocidad de disolución se han desarrollado cuatro tipos de aparatos (16).

1. Aparatos de depósito cerrado utilizando membranas de diálisis.
2. Aparatos de depósito cerrado. Descritos en la USP XXI (1).
3. Aparatos de flujo cerrado con depósito acumulativo.
4. Aparatos de flujo abierto con depósito acumulativo.

2.2 Biodisponibilidad y Bioequivalencia.

La Biodisponibilidad "Es un término usado para indicar una medida, tanto de la cantidad relativa que alcanza en la circulación general una dosis de fármaco administrado como la velocidad a la cual esto ocurre" (17).

Los factores que afectan a la Biodisponibilidad son:

1. Factores inherentes a la forma farmacéutica.
2. Factores biológicos.
3. Administración de otros medicamentos al mismo tiempo.

Una de las finalidades del concepto de Biodisponibilidad es poner en evidencia las diferencias entre medicamentos que contienen un mismo principio activo, generalmente a las mismas dosis nominales y susceptibles a ser considerados como equivalentes.

La Bioequivalencia es un término comparativo de Biodisponibilidad. La Bioequivalencia es "el carácter de los medicamentos de la misma dosis nominal del principio activo, que tienen una Biodisponibilidad comparable cuando son administrados con la misma posología a los mismos sujetos " (3).

La diferencia entre Biodisponibilidad y Bioequivalencia es que, la primera es la característica de un medicamento dado que da la idea de la manera en que el principio activo es puesto a disposición del organismo, pero sin prejuzgar de la forma en que este va a disponer de él, ni de la forma en que el principio activo va actuar sobre este mismo organismo y la Bioequivalencia es una condición necesaria, pero no suficiente de la equivalencia terapéutica, pues ésta va a depender en última instancia de los factores ligados al paciente y no al medicamento.

2.3 Cloropropamida.

2.3.1 Propiedades Fisicoquímicas (18) (19) (20)

a. Descripción:

Polvo cristalino blanco, inodoro. Tiene una absorción máxima a λ_{32} nm ($E_{1\%}^{1cm}$, 600) en HCl 0.01 N.

b. Nombre químico:

4 - Cloro - N [(propilamino)carbonil]bencensulfonamida.
 1 - (p - clorofenilsulfonil) - 3 - propilurea.
 1 - (p - clorobencensulfonil) - 3 - propilurea.
 N - propil - N' - (p - clorobencensulfonil) urea.

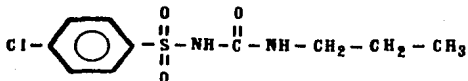
c. Nombre comercial:

Adiabén; Asucrol; Catabil; Chloronase; Diabeclor; Diabeval; Diabiose; Mollinose; Oradian; Stobiol.

d. Fórmula condensada:



e. Fórmula desarrollada:



f. Peso molecular:

276.75 g/mol.

2.3.2. Conservación.

Guardar en recipientes herméticamente cerrados.

2.3.3. Propiedades físicas.

a. Solubilidad:

Insoluble en agua. Soluble 1 en 12 de etanol, 1 en 20 de éter y 1 en 9 de cloroformo (2b), en agua a pH = 6, 2.2 mg/ml. Prácticamente insoluble en agua a pH = 7.3. Soluble en alcohol, moderadamente soluble en cloroformo, escasamente soluble en éter y benceno (19).

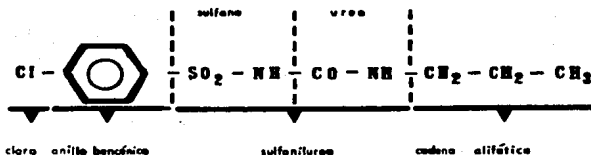
b. Punto de fusión:

Funde alrededor de 127°C - 129°C .

2.3.4 Propiedades farmacológicas (21) (22).

a. Origen y química.

La cloropropamida es un derivado de origen sintético de las sulfonilureas, hipoglucemiante activo por vía oral. La duración de la acción hipoglucemiante se da por el anillo benzénico unido al radical sulfona, por el halógeno cloro y también por la cadena alifática de 3C que reemplaza a un hidrógeno de la porción urea de sulfonilurea.



b. Acción y mecanismo.

La acción fundamental es la hipoglucemiante. En el diabético por vía oral provoca descenso de la glucemia dependiendo de la dosis administrada. Debe ser utilizada en el control de la diabetes mellitus (leve) suave, sin cetoacidosis, de comienzo en la madurez y sin antecedentes de disfunción hepática o renal. Es inefectiva en diabetes juvenil o lábil aunque en algunos casos llega a ser efectiva.

Se acepta actualmente que actúa estimulando la secreción de insulina por las células beta de los islotes de Langerhans.

c. **Farmacocinética.**

Se absorbe por el tracto gastrointestinal encontrán dose unida a proteínas del plasma alcanzando niveles de tectables en una hora y su máximo de 2 a 4 horas después de su ingestión.

Su eliminación es efectuada por el riñon y es muy lenta aproximadamente 72 horas, lo que ocasiona su acción prolongada. La principal forma de eliminación es como cloropropamida sin metabolizar y otros metabolitos como son p-clorobencensulfonilurea y p-clorobencensulfonamida.

La vida media de este medicamento es de 30 - 36 horas.

d. **Toxicidad.**

Se pueden producir trastornos gastrointestinales, hepáticos, cutáneos, hemáticos y una reacción semejante al disulfurano cuando se ingiere alcohol. Los trastornos producidos se tratan disminuyendo la dosis o suprimiendo el medicamento, junto con medidas sintomáticas. No se debe emplear en diabetes complicada con infección, en las intervenciones quirúrgicas y en presencia de cetocidosis y coma.

e. **Dosis.**

Forma farmacéutica comercial ; tabletas de 250 mg.

	Usual	250 mg una vez por día.
Dosis	Límites	125 a 750 mg una vez por día.
	Máxima	por vez 750 mg. por día 750 mg.

3.1 Equipo y Reactivos.

Equipo.

Agitador magnético (Lab-line-Magne stir No.1278).
 Balanza Analítica (Mettler, Modelo 30).
 Balanza Granataria (Mettler, Modelo P 163).
 Baño de agua a temperatura constante.
 Celdas de cuarzo (Coleman S).
 Cronómetro (Security, Racine).
 Disolutor tipo II USP (ELECSA, Modelo 25-250).
 Espectrofotómetro UV-VIS (Beckman, Modelo 35).
 Potenciómetro (Corning, Modelo 1360).
 Termómetro (Taylor instrumental).

Material de vidrio.

Reactivos

Acido Bórico R.A. 99.8% (Merck-México, S.A.).
 Acido Clorhídrico R.A. 37.8% (J.T. Baker, S.A. de C.V.).
 Cloruro de Potasio R.A. 99.5% (Merck-México, S.A.).
 Cloropropamida Patrón 99.64% (Química-Hoechst de México).
 Etanol R.A. 99.8% (J.T. Baker, S.A. de C.V.).
 Fosfato Monobásico de Potasio R.A. 99.5% (Merck-México, S.A.).
 Hidróxido de Sodio R.A. 98.9% (Merck-México, S.A.).
 Medios de disolución; Soluciones buffer de Acido Clorhídrico, Fosfatos, Borato Alcalino a pH de 1.2 ; 3.5; 5.8 ; 6.8 ; 7.0 ; 8.0 ; 9.0 ; 10.0.

3.2 Metodología general.

- ↳ Selección. Se estudio un principio activo de cloropropamida y tres lotes de tabletas con un peso de 396 mg, las cuales contienen 250 mg de cloropropamida por tableta.

♦ Control de Calidad.

Al principio activo de cloropropamida como a los diferentes lotes de tabletas se les efectuaron las siguientes pruebas de control fisicoquímico con el fin de conocer la calidad de los mismos antes de iniciar el estudio, de acuerdo a especificaciones de USP XXI (1).

Principio Activo.	Lotes.
- Identificación.	- Identificación.
- Pérdida al Secado.	- Contenido Químico.
- Residuo de ignición.	- Desintegración.
- Metales Pesados.	- Variación de Peso.
- Punto de Fusión.	- Friabilidad.
- Valoración.	- Dureza.

3.2.1 Estudio de disolución.

♦ Prueba de disolución.

Seguir los lineamientos propuestos por la USP XXI (1), utilizando soluciones buffer de diferente pH como medios de disolución, preparar estas soluciones buffer como se indica en (1).

Condiciones de trabajo:

- Aparato número II.
- Volumen del medio de disolución : 900 ml.
- Velocidad de agitación : 50 rpm.
- Temperatura : $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.
- Tiempo : 60 minutos.
- Volumen de la alícuota : 10 ml.

♦ Perfiles de disolución.

Utilizar las mismas condiciones anteriores, sólo que se tomarán alícuotas de 10 ml. a los 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 90 y 120 minutos, reponiendo el volumen extraído en cada ocasión a la temperatura $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

3.3 Método de cuantificación de la cloropropamida en las muestras de disolución.

Retirar una alícuota de 10 ml. una vez terminado el tiempo de disolución de cada uno de los contenedores del disolutor y transferir a tubos de ensaye. Dejar equilibrar la temperatura a la temperatura ambiente, filtrar en papel filtro Whatman No.41 . Tomar una alícuota de 2 ml. con pipeta volumétrica y transferir a un matraz volumétrico de 50 ml., aforar con el medio de disolución con el cual se este trabajando. Leer en UV a una λ de 232 nm.

3.3.1 Preparación de la solución patrón de referencia de cloropropamida .

Pesar exactamente 27.77 mg de patrón de cloropropamida previamente secada a 105°C y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. aforar con el medio de disolución con el cuál se este trabajando y agitar hasta disolución total. Tomar de ésta solución una alícuota de 2 ml con pipeta volumétrica y transferir a un matraz volumétrico de 50 ml. aforar con el medio de disolución respectivo, agitar. Esta última solución tiene una concentración de 11.11 mcg/ml. Leer en el espectrofotómetro a una λ de 232 nm , las absorbancias correspondientes para cada pH.

3.4 Validación del método de cuantificación en la prueba de disolución para tabletas de cloropropamida.

3.4.1 Linealidad del sistema.

Preparar una curva de calibración a partir de una solución concentrada de cloropropamida, de 2.777 mcg/ml a 22.216 mcg/ml , efectuando por triplicado diluciones na-

ra obtener el 45%, 50%, 100%, 150% y 200% respecto al contenido teórico de principio activo (11.11 mcg/ml).

3.4.2 Linealidad del método.

Efectuar por triplicado de manera independiente la determinación al 60%, 80%, 100% y el 120% el contenido de cloropropamida por tableta.

3.4.3 Precisión y exactitud del método.

Evaluar el % de recobro de diez determinaciones.

3.4.4 Reproducibilidad.

Llevar a cabo el análisis en diferentes días y por diferentes analistas.

3.4.5 Estabilidad de la muestra.

Someter la muestra por triplicado a la oscuridad, refrigeración y radiaciones de luz blanca.

Capítulo IV

RESULTADOS

4.1 Metodología general.

Características de Control de Calidad.

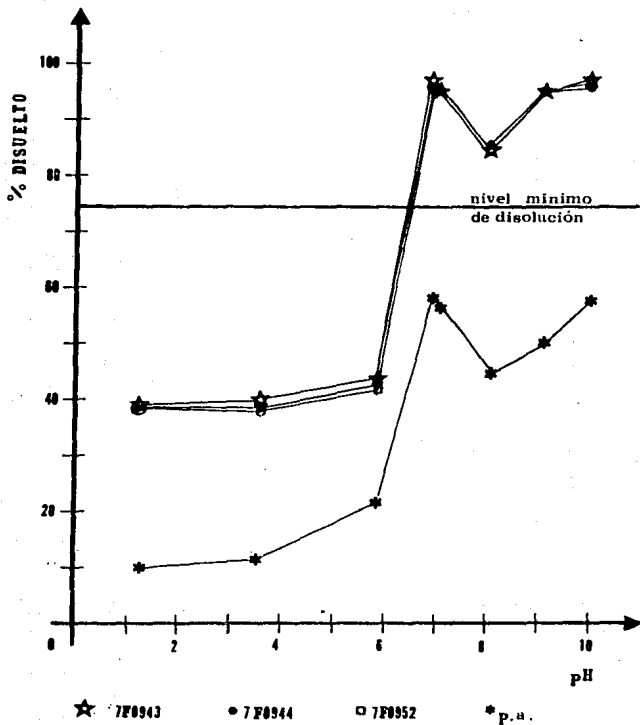
Tabla I . Resultados del análisis de Control de Calidad para el principio activo de cloropropamida.

PRUEBAS	RESULTADOS	ESPECIFICACIONES
IDENTIFICACION	POSITIVA	POSITIVA
PERDIDA AL SECADO %	0.18	MAXIMO 1
RESIDUC DE IGNICION %	0.03	MAXIMO 0.4
METALES PESADOS ppm	MEJOR A 3	MAXIMO 3
PUNTO DE FUSION °C	128.5	125 - 129
VALORACION %	100.35	97 - 103

Tabla Ia . Resultados del análisis de Control de Calidad de tres lotes de tabletas de cloropropamida.

LOTES	7F0943 A	7F0944 B	7F0952 C	ESPECIFICACIONES
IDENTIFICACION.	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA
CONTENIDO QUIMICO % (n = 3)	98.750	98.087	98.320	95 - 105
TIEMPO DE DESINTEGRACION min. (n=6)	15	15	15	15
VARIACION DE PESO % (n = 20)	0.27-4.91	0.16-2.78	0.37-4.57	PESO PROMEDIO ± 5
FRIABILIDAD % (n = 20)	0.2	0.1	0.01	MAXIMO 0.8
DUREZA Kg/cm ² (n = 10)	5 - 10 $\bar{X}=7.1$	6 - 10 $\bar{X}=7.4$	5 - 8 $\bar{X}=6.1$	MINIMO 5

GRÁFICA - I
PORCIENTO DISUELTO PARA TABLETAS DE CLOROPROPA-
MIDA A LOS 60 MINUTOS EN FUNCIÓN DEL pH.
 \bar{X} (n = 6).



**EFFECTO DEL LOTE EN EL % DISUELTTO PARA TABLETAS
DE CLOROPROPANIDA**

Se utilizó el diseño de bloques aleatorios para probar la hipótesis de :

$$H_0 : U_1 = U_2 = U_3$$

$$H_1 : U_1 \neq U_2 \neq U_3 \text{ para } t \text{ y } r.$$

Criterio: Si $F_c \leq F_t$, se acepta H_0 .

$t = 8$ Diferentes valores de pH (tratamientos).

$r = 3$ tipos de lotes (Bloques).

El porciento disuelto para tabletas de cloropropamida a los 60 minutos es el siguiente:

TRATAMIENTOS pH	7FO943	BLOQUES 7FO944	7FO952
1. 1.2	39.758	38.624	38.406
2. 3.5	40.578	39.949	38.650
3. 5.8	44.610	43.739	42.745
4. 6.8	97.576	96.513	96.535
5. 7.0	94.566	94.651	94.511
6. 8.0	85.718	86.887	85.335
7. 9.0	95.738	95.444	95.928
8.10.0	97.838	95.838	96.480

ANALISIS DE LA VARIANZA

Tabla II

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F_c
Tratamientos	7	16184.7583	2312.1084	6760.17
Bloques	2	3.4984	1.7419	5.1194
Error	14	4.7883	0.3420	
Total	23	16193.0450		

$F_t = 1\% (7,14) = 4.2779$ Como $F_c > F_t$. Se rechaza H_0 . Tratamientos.

$F_t = 1\% (2,14) = 6.5149$ Como $F_c \leq F_t$. Se acepta H_0 . Bloques.

Las siguientes tablas muestran los resultados promedio obtenidos, con el tratamiento correspondiente de datos para tabletas de cloropropamida a diferentes pH.

Lote 7F0943.

Tabla IIIa pH = 1.2

t	SD	mg	Wt	Ft	(1-Ft)	(1-ft) ²	plu(1-ft)
0	0	0	246.875	0	0	0	1
10	6.8	16.788	230.087	0.0680	0.9320	0.9768	--.0704
20	15.23	37.599	209.276	0.1523	0.8477	0.9464	--.1652
30	22.18	54.757	192.118	0.2218	0.7782	0.9198	--.2508
40	30.83	76.112	170.763	0.3083	0.6917	0.8844	--.3686
50	46.58	114.994	131.881	0.4658	0.5342	0.8114	--.6270
60	51.16	126.301	120.574	0.5116	0.4884	0.7875	--.7166
70	59.79	147.533	99.343	0.5979	0.4021	0.7381	--.9111
90	63.11	155.803	91.072	0.6311	0.3689	0.7172	--.9972
120	66.33	163.752	83.122	0.6633	0.3367	0.6957	-1.089

Tabla IIIb pH = 3.5

10	10.08	24.885	221.990	0.1008	0.8992	0.9652	--.1062
20	17.98	44.388	202.487	0.1798	0.8202	0.9418	--.1798
30	22.74	56.139	190.734	0.2274	0.7726	0.9270	--.2274
40	28.07	69.298	177.577	0.2807	0.7193	0.8960	--.3295
50	35.28	87.098	159.778	0.3528	0.6472	0.8650	--.4351
60	39.99	98.725	148.150	0.3999	0.6001	0.8435	--.5106
70	46.12	113.859	133.016	0.4612	0.5388	0.8137	--.6185
90	53.31	131.609	115.266	0.5331	0.4669	0.7702	--.7833
120	57.15	141.089	105.786	0.5715	0.4285	0.7939	--.8475

Tabla IIIc pH = 5.8 (Agua)

10	10.08	24.885	221.990	0.1008	0.8992	0.9652	--.1062
20	13.77	33.995	212.880	0.1377	0.8623	0.9518	--.1482
30	20.73	51.177	195.698	0.2073	0.7927	0.9255	--.2323
40	25.34	62.558	184.317	0.2534	0.7466	0.9064	--.2922
50	30.54	75.396	171.479	0.3054	0.6946	0.8856	--.3644
60	32.26	79.642	167.233	0.3226	0.6474	0.8651	--.4348
70	36.93	91.171	155.704	0.3693	0.6307	0.8576	--.4609
90	43.62	105.218	141.657	0.4262	0.5738	0.8310	--.5554
120	46.66	115.191	131.684	0.4666	0.5334	0.8110	--.6285

Tabla IIId pH = 6.8

10	45.87	112.748	134.127	0.4587	0.5413	0.8160	--.6101
20	75.57	186.563	60.312	0.7557	0.2443	0.6251	-1.409
30	91.68	226.335	20.540	0.9168	0.0832	0.4366	-2.487
40	98.94	244.258	2.617	0.9894	0.0106	0.2203	-4.547
50	99.08	244.604	2.271	0.9908	0.0092	0.2097	-4.689
60	99.13	244.727	2.148	0.9913	0.0087	0.2056	-4.744
70	99.18	244.851	2.024	0.9918	0.0082	0.2017	-4.806
90	99.15	244.777	2.098	0.9915	0.0085	0.2038	-4.768
120	99.18	244.851	2.024	0.9918	0.0082	0.2020	-4.804

Lote 7F0943.

Tabla IIIe pH = 7.0

tiempo	mg	Wt	ft	(1-ft)	(1-ft) ²	ln(1-ft)	
0	0	246.875	0	1	1	0	
10'	38.31	94.578	152.297	0.3831	0.6169	0.8513	-1.4830
20'	53.95	133.189	113.686	0.5395	0.4605	0.7722	-1.2585
30'	68.36	168.764	78.111	0.6836	0.3164	0.6914	-1.151
40'	76.33	188.440	58.435	0.7633	0.2367	0.6186	-1.441
50'	85.31	210.609	36.266	0.8531	0.1469	0.5277	-1.918
60'	91.16	225.051	21.824	0.9116	0.0884	0.4454	-2.426
70'	92.62	228.656	18.219	0.9262	0.0738	0.4195	-2.606
90'	93.23	230.162	16.713	0.9323	0.0677	0.4076	-2.693
120'	94.09	232.285	14.590	0.9409	0.0591	0.3895	-2.829

Tabla IIIf pH = 8.0

10'	33.28	82.160	164.715	0.3328	0.6672	0.8738	-1.4097
20'	44.90	110.847	136.028	0.4490	0.5510	0.8198	-1.5960
30'	59.25	146.273	100.602	0.5925	0.4075	0.7414	-1.8977
40'	72.16	178.145	68.730	0.7216	0.2784	0.6530	-1.2791
50'	80.29	198.216	48.659	0.8029	0.1971	0.5820	-1.624
60'	85.67	211.498	35.377	0.8567	0.1433	0.5233	-1.942
70'	87.14	215.127	31.748	0.8714	0.1286	0.5048	-2.051
90'	88.93	219.546	27.329	0.8893	0.1107	0.4802	-2.201
120'	89.79	221.669	25.206	0.8979	0.1021	0.4674	-2.282

Tabla IIIg pH = 9.0

10'	29.55	72.952	173.923	0.2955	0.7045	0.8898	-1.3536
20'	52.00	128.375	118.500	0.5200	0.4800	0.7830	-1.7340
30'	67.11	165.678	81.197	0.6711	0.3289	0.6903	-1.112
40'	78.15	192.933	53.942	0.7815	0.2185	0.6023	-1.521
50'	87.37	215.695	31.180	0.8737	0.1263	0.5017	-2.069
60'	92.80	229.100	17.775	0.9280	0.0720	0.4160	-2.631
70'	93.46	230.729	16.146	0.9346	0.0654	0.4029	-2.727
90'	94.13	232.383	14.492	0.9413	0.0587	0.3886	-2.835
120'	95.55	235.889	10.986	0.9555	0.0445	0.3544	-3.112

Tabla IIIh pH = 10.0

10'	44.60	110.106	136.789	0.4460	0.5540	0.6213	-1.5906
20'	59.25	146.273	100.601	0.5925	0.4075	0.7414	-1.8977
30'	75.94	187.477	59.398	0.7594	0.2406	0.6220	-1.425
40'	82.33	215.596	31.279	0.8233	0.1767	0.5611	-1.733
50'	89.68	221.398	25.478	0.8968	0.1032	0.4690	-2.271
60'	94.53	233.371	13.504	0.9453	0.0547	0.3797	-2.906
70'	96.13	237.321	9.554	0.9613	0.0387	0.3382	-3.252
90'	97.45	240.580	6.295	0.9745	0.0255	0.2443	-3.669
120'	97.90	241.691	5.184	0.9790	0.0210	0.2759	-3.663

Dónde:

- tiempo = Tiempo en minutos
- % D = Porcentaje disuelto
- mg = miligramos disueltos
- Wt = Cantidad remanente
- ft = fracción liberada

Lote 7FO944.

Tabla IVa pH = 1.2

t	%D	mg	Wt	ft	(1-ft)	(1-ft) ²	ln(1-ft)
0	0		245.218	0	1	1	0
10	9.97	24.448	220.770	0.0997	0.9003	0.9656	-1.050
20	15.98	39.186	206.032	0.1598	0.8402	0.9436	-1.1741
30	25.85	63.389	181.829	0.2585	0.7415	0.9051	-1.2991
40	31.46	77.146	168.072	0.3146	0.6854	0.8817	-1.3778
50	36.93	90.559	154.659	0.3693	0.6307	0.8576	-1.4609
60	43.68	107.111	138.107	0.4368	0.5632	0.8258	-1.5741
70	47.87	117.386	127.832	0.4787	0.5213	0.8048	-1.6514
90	54.26	133.055	112.163	0.5426	0.4574	0.7705	-1.7822
120	58.60	143.698	101.520	0.5860	0.4140	0.7453	-1.8819

Tabla IVb pH = 3.5

10	11.36	27.857	217.361	0.1136	0.8864	0.9606	-1.1206
20	18.94	46.444	198.774	0.1894	0.8106	0.9324	-1.2100
30	23.19	56.866	188.352	0.2319	0.7681	0.9158	-1.2638
40	28.14	69.004	176.214	0.2814	0.7186	0.8957	-1.3305
50	32.87	80.603	164.615	0.3287	0.6713	0.8756	-1.3985
60	38.28	93.869	151.349	0.3828	0.6172	0.8514	-1.4626
70	42.43	104.046	141.172	0.4243	0.5757	0.8319	-1.5522
90	51.48	126.238	118.980	0.5148	0.4852	0.7858	-1.7232
120	56.77	139.210	106.008	0.5677	0.4323	0.7561	-1.8386

Tabla IVc pH = 5.8 (Agua)

10	12.82	31.437	213.781	0.1282	0.8718	0.9553	-1.1372
20	19.15	46.959	198.259	0.1915	0.8085	0.9316	-1.2126
30	25.76	63.168	182.050	0.2576	0.7424	0.9055	-1.2979
40	31.01	76.042	169.176	0.3101	0.6899	0.8836	-1.3712
50	37.43	91.785	153.433	0.3743	0.6257	0.8553	-1.4688
60	41.61	102.035	143.183	0.4161	0.5839	0.8358	-1.5380
70	46.58	114.223	130.995	0.4658	0.5342	0.8114	-1.6270
90	55.70	136.586	108.632	0.5570	0.4430	0.7623	-1.8142
120	59.34	145.512	99.706	0.5934	0.4066	0.7406	-1.8999

Tabla IVd pH = 6.8

10	43.48	106.628	138.597	0.4348	0.5652	0.8268	-1.5706
20	65.58	160.814	84.404	0.6558	0.3442	0.7008	-1.0665
30	81.35	199.485	45.733	0.8135	0.1865	0.5713	-1.6793
40	91.28	223.835	21.383	0.9128	0.0872	0.4434	-2.4396
50	96.61	236.905	8.313	0.9661	0.0339	0.3237	-3.3843
60	96.88	237.567	7.651	0.9688	0.0312	0.3148	-3.4673
70	97.35	238.720	6.498	0.9735	0.0265	0.2961	-3.6336
90	97.58	239.284	5.934	0.9758	0.0242	0.2892	-3.7214
120	97.41	238.867	6.351	0.9741	0.0259	0.2959	-3.6535

Dóde:

- t = Tiempo en minutos.
 %D = Porcentaje disuelto.
 mg = mg disueltos.
 Wt = Cantidad liberada.
 ft = fracción liberada.

Lote 7F0944.

Tabla IVe pH = 7.0

t	%D	mg	Wt	Ft	(1-ft)	(1-ft) ²	ln(1-ft)
0	0	0	245.218	0	1	1	0
10	36.75	90.118	155.100	0.3675	0.6325	0.8584	-0.4581
20	53.25	130.579	114.639	0.5325	0.4675	0.7761	-0.7604
30	65.80	161.353	83.865	0.6580	0.3420	0.6993	-1.073
40	76.82	198.376	56.842	0.7682	0.2318	0.6143	-1.462
50	84.43	207.338	38.180	0.8443	0.1557	0.5380	-1.860
60	90.77	222.584	22.634	0.9077	0.0923	0.4520	-2.382
70	91.54	225.453	19.765	0.9194	0.0806	0.4320	-2.518
80	92.71	227.342	17.876	0.9271	0.0729	0.4178	-2.619
120	93.13	228.372	16.846	0.9313	0.0687	0.4096	-2.678

Tabla IVf pH = 8.0

10	32.85	80.554	164.664	0.3285	0.6715	0.8757	-0.3982
20	47.42	116.282	128.936	0.4742	0.5258	0.8071	-0.6428
30	59.67	146.322	98.896	0.5967	0.4033	0.7388	-0.9061
40	71.85	176.189	69.029	0.7185	0.2815	0.6654	-1.268
50	80.12	196.469	48.749	0.8012	0.1988	0.5836	-1.615
60	86.38	211.084	34.134	0.8638	0.1362	0.5183	-1.971
70	87.14	213.682	31.535	0.8714	0.1286	0.5048	-2.051
80	89.73	220.034	25.184	0.8973	0.1027	0.4683	-2.276
120	91.19	223.614	21.604	0.9119	0.0881	0.4449	-2.429

Tabla IVg pH = 9.0

10	29.31	71.873	173.345	0.2931	0.7069	0.8908	-0.3469
20	52.33	128.323	116.895	0.5233	0.4767	0.7812	-0.7409
30	67.13	164.615	80.603	0.6713	0.3287	0.6901	-1.113
40	79.07	193.894	51.324	0.7907	0.2093	0.5937	-1.564
50	87.82	215.350	29.868	0.8782	0.1218	0.4957	-2.105
60	93.37	228.960	16.258	0.9337	0.0663	0.4048	-2.714
70	95.13	233.276	11.942	0.9513	0.0487	0.3652	-3.022
80	96.48	236.586	8.632	0.9648	0.0352	0.3277	-3.347
120	95.99	235.385	9.833	0.9599	0.0401	0.3423	-3.216

Tabla IVh pH = 10.0

10	43.77	107.332	137.886	0.4377	0.5623	0.8254	-0.5751
20	60.18	147.572	97.646	0.6018	0.3982	0.7357	-0.9208
30	74.54	182.785	62.433	0.7454	0.2546	0.6338	-1.368
40	83.27	204.193	41.025	0.8327	0.1673	0.5510	-1.788
50	90.65	222.290	22.928	0.9065	0.0935	0.4539	-2.369
60	95.33	233.700	11.452	0.9533	0.0467	0.3601	-3.064
70	94.86	232.614	12.604	0.9486	0.0514	0.3718	-2.968
80	95.42	235.213	10.005	0.9542	0.0408	0.3443	-3.199
120	94.17	230.922	14.296	0.9417	0.0583	0.3876	-2.842

Lote 7F0952

Tabla Va pH = 1.2

t	%D	mg	Wt	Ft	(1-Ft)	(1-Ft) ²	ln(1-Ft)
0	0	0	245.800	0	1	1	0
10	10.01	24.605	221.195	0.1001	0.8999	0.9655	-1.1065
20	16.36	40.213	205.587	0.1636	0.8364	0.9422	-1.1786
30	26.46	65.039	180.761	0.2646	0.7354	0.9026	-1.3073
40	31.92	78.460	167.345	0.3192	0.6808	0.8797	-1.3845
50	37.34	91.782	154.018	0.3734	0.6266	0.8557	-1.4674
60	44.28	108.840	136.960	0.4428	0.5572	0.8229	-1.5948
70	48.43	119.041	126.759	0.4843	0.5157	0.7853	-1.7251
90	56.31	138.410	107.390	0.5631	0.4369	0.7588	-1.8281
120	59.37	145.931	99.869	0.5937	0.4063	0.7407	-1.9007

Tabla Vb pH = 3.5

10	10.46	25.711	220.089	0.1046	0.8954	0.9638	-1.1105
20	17.83	43.836	201.974	0.1783	0.8217	0.9366	-1.1964
30	24.20	59.484	186.316	0.2420	0.7580	0.9118	-1.2771
40	27.32	67.153	178.647	0.2732	0.7268	0.8991	-1.3190
50	33.86	83.228	162.572	0.3386	0.6614	0.8713	-1.4134
60	39.41	96.870	148.930	0.3941	0.6059	0.8462	-1.5010
70	43.26	106.333	139.467	0.4326	0.5674	0.8279	-1.5667
90	52.15	128.185	117.615	0.5215	0.4785	0.7822	-1.7371
120	57.88	142.269	103.531	0.5788	0.4212	0.7496	-1.8646

Tabla Vc pH = 5.8 (Agua)

10	12.14	29.840	215.960	0.1214	0.8786	0.9578	-1.1294
20	18.96	46.604	199.200	0.1896	0.8104	0.9323	-1.2102
30	25.31	62.212	183.588	0.2531	0.7469	0.9073	-1.2918
40	30.92	76.001	169.799	0.3092	0.6908	0.8840	-1.3699
50	37.21	91.462	154.338	0.3721	0.6279	0.8563	-1.4654
60	41.15	101.147	144.653	0.4115	0.5885	0.8380	-1.5302
70	46.31	113.830	131.970	0.4631	0.5369	0.8128	-1.6219
90	55.60	136.665	109.135	0.5560	0.4490	0.7649	-1.8119
120	58.88	144.727	101.073	0.5888	0.4112	0.7436	-1.8887

Tabla Vd pH = 6.8

10	44.00	108.152	137.648	0.4400	0.5600	0.8243	-1.5798
20	65.96	162.130	83.670	0.6596	0.3404	0.6982	-1.3078
30	81.38	200.032	45.768	0.8138	0.1862	0.5710	-1.651
40	92.36	227.021	18.780	0.9236	0.0764	0.4443	-2.572
50	96.48	237.147	8.652	0.9648	0.0352	0.3277	-3.346
60	96.84	238.033	7.767	0.9648	0.0316	0.3162	-3.456
70	97.38	239.360	6.440	0.9738	0.0262	0.2970	-3.642
90	97.59	239.876	5.924	0.9759	0.0241	0.2889	-3.726
120	97.87	240.564	5.236	0.9787	0.0213	0.2772	-3.849

Dónde:

- t = Tiempo en minutos.
 %D = Porcentaje disuelto.
 mg = mg disueltos.
 Wt = Cantidad remanente
 Ft = Fracción liberada

Lote 7F0952

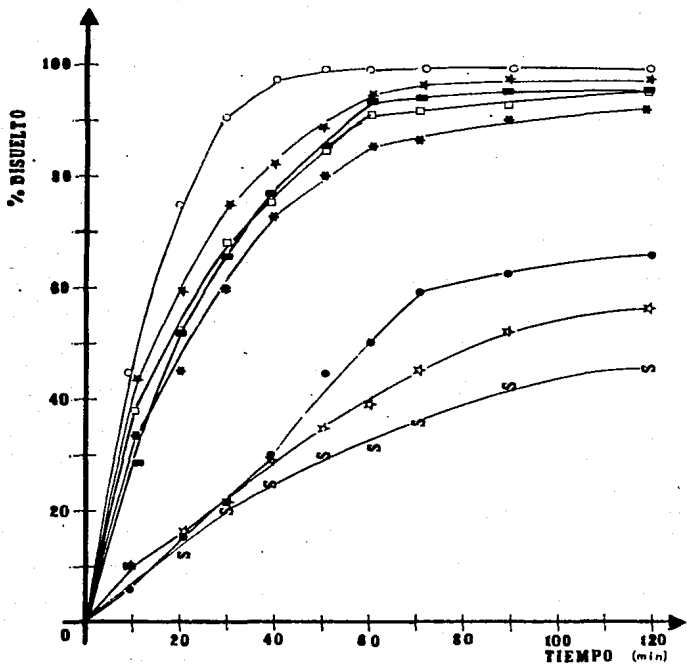
Tabla		V _g		pH = 7.0		Wt.	Ft	(1-Ft)	(1-Ft) ² ln(1-Ft)
t	%D	mg	mg						
0	0	0	0	245.800	0	1	1		
10	35.48	87.210	158.590	0.3548	0.6452	0.8641	-0.4382		
20	53.11	130.544	115.256	0.5311	0.4689	0.7769	-0.7474		
30	65.28	160.458	85.342	0.6528	0.3472	0.7028	-1.058		
40	75.15	184.719	61.081	0.7515	0.2485	0.6287	-1.392		
50	83.20	204.506	41.294	0.8320	0.1680	0.5518	-1.784		
60	91.16	224.071	21.730	0.9116	0.0884	0.4455	-2.426		
70	92.36	227.021	18.780	0.9236	0.0764	0.4243	-2.572		
90	93.50	229.823	15.977	0.9350	0.0650	0.4021	-2.733		
120	94.98	233.461	12.340	0.9458	0.0502	0.3689	-2.992		

Tabla		V _g		pH = 8.0		Wt.	Ft	(1-Ft)	(1-Ft) ² ln(1-Ft)
t	%D	mg	mg						
10	33.00	81.114	164.686	0.3300	0.6700	0.8750	-0.4004		
20	47.88	117.689	128.111	0.4788	0.5212	0.8048	-0.6516		
30	60.30	148.217	97.583	0.6030	0.3970	0.7350	-0.9238		
40	71.83	176.558	69.242	0.7183	0.2817	0.6555	-1.267		
50	81.14	199.442	46.356	0.8114	0.1886	0.5735	-1.668		
60	87.20	214.338	31.462	0.8720	0.1280	0.5040	-2.056		
70	87.97	216.230	29.570	0.8797	0.1203	0.4937	-2.118		
90	89.30	219.500	26.301	0.8930	0.1070	0.4747	-2.235		
120	92.33	226.947	18.853	0.9233	0.0767	0.4249	-2.567		

Tabla		V _g		pH = 9.0		Wt.	Ft	(1-Ft)	(1-Ft) ² ln(1-Ft)
t	%D	mg	mg						
10	30.48	74.920	170.880	0.3048	0.6952	0.8859	-0.3636		
20	53.83	132.314	113.486	0.5383	0.4617	0.7729	-0.7728		
30	68.17	167.562	78.238	0.6817	0.3183	0.6828	-1.145		
40	79.23	194.747	51.053	0.7923	0.2077	0.5922	-1.572		
50	88.17	216.722	29.078	0.8817	0.1183	0.4909	-2.134		
60	93.89	230.781	15.018	0.9389	0.0611	0.3939	-2.796		
70	95.15	233.879	11.921	0.9515	0.0485	0.3647	-3.026		
90	96.38	236.902	8.898	0.9638	0.0362	0.3308	-3.319		
120	96.76	237.836	7.964	0.9676	0.0324	0.3188	-3.430		

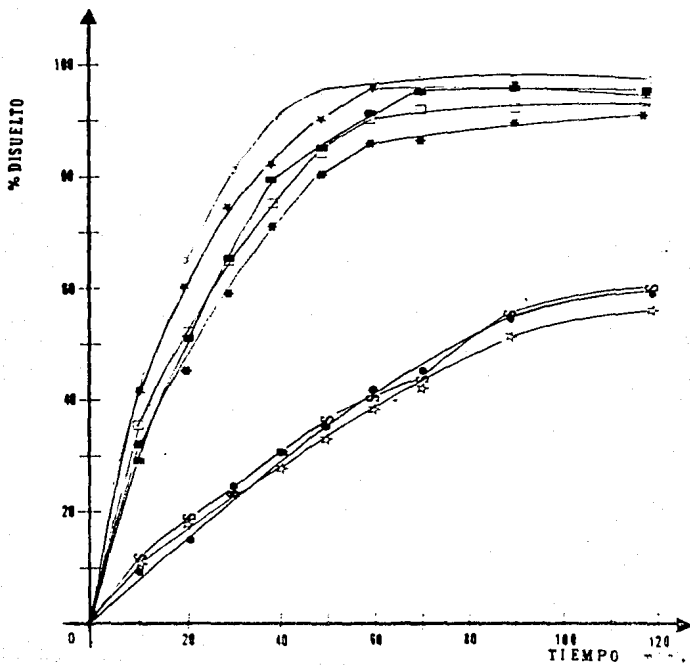
Tabla		V _g		pH = 10.0		Wt.	Ft	(1-Ft)	(1-Ft) ² ln(1-Ft)
t	%D	mg	mg						
10	42.71	104.981	140.819	0.4271	0.5729	0.8305	-0.5570		
20	60.23	148.045	97.755	0.6023	0.3977	0.7354	-0.9221		
30	75.01	184.375	61.425	0.7501	0.2499	0.6299	-1.386		
40	83.88	206.177	39.623	0.8388	0.1612	0.5442	-1.825		
50	91.56	225.054	23.746	0.9156	0.0844	0.4386	-2.472		
60	96.30	236.705	9.095	0.9630	0.0370	0.3332	-3.297		
70	96.71	237.713	8.087	0.9671	0.0329	0.3204	-3.414		
90	96.88	238.131	7.669	0.9688	0.0312	0.3148	-3.467		
120	95.88	235.673	10.127	0.9588	0.0412	0.3454	-3.139		

GRAFICA - II
 PERFIL DE DISOLUCION PARA TABLETAS DE CLOROPROPAMI-
 DA DEL LOTE 7F0948 A DIFERENTES pH. \bar{X} (n=6).



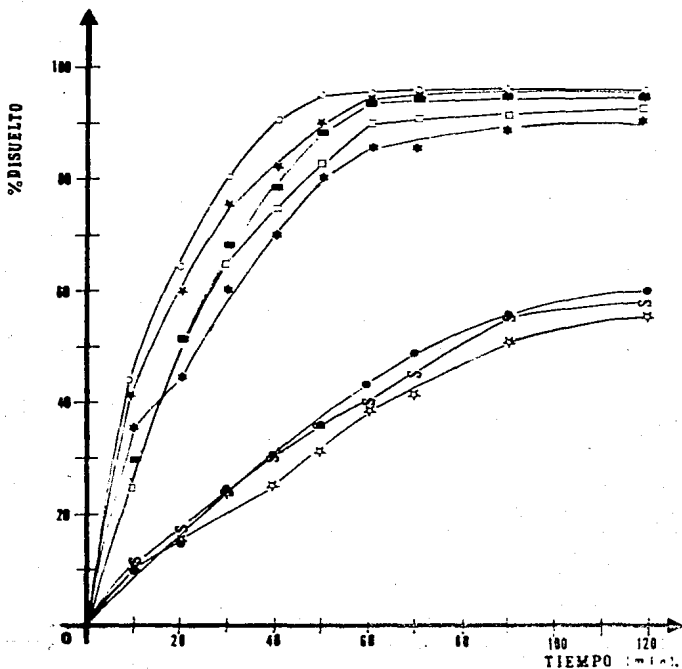
● 1.2 × 3.5 ◊ 5.0 ○ 6.5 □ 7.0 + 8.0 = 9.0 × 10.0

GRAFICA- III
 PERFIL DE DISOLUCION PARA TABLETAS DE
 CLOROPROPAMIDA DEL LOTE 7F0944 A DIFERENTES
 pH. X (n=6).



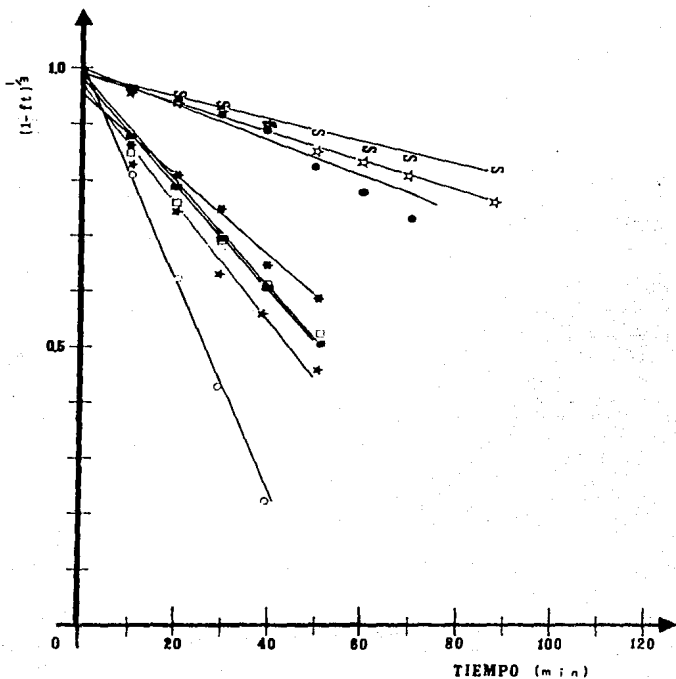
• 1.2 x 3.5 ◻ 5.8 ◊ 7.0 ◐ 8.0 * 10.0

GRAFICA-IV
 PERFIL DE DISOLUCION PARA TABLETAS DE
 CLOROPROPAMIDA DEL LOTE 7F0052 A DIFERENTES
 pH. X (n.º)



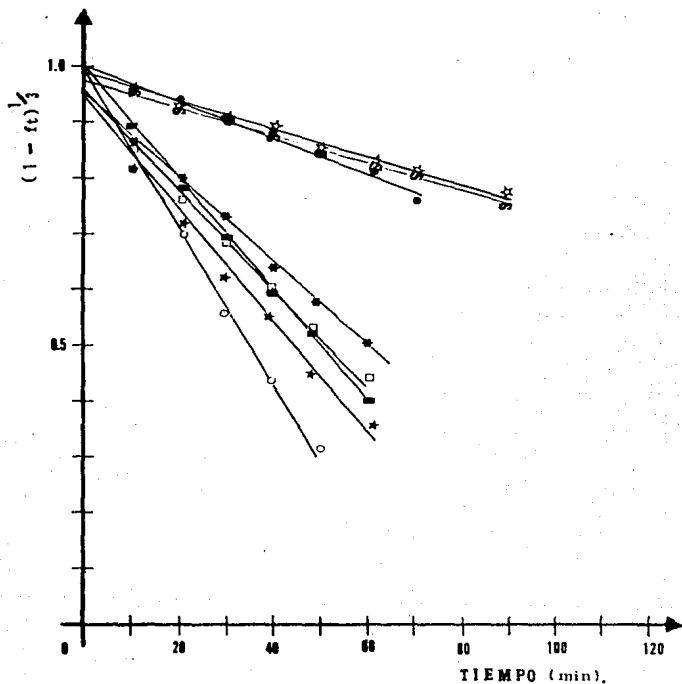
• 12 × 25 ◐ 38 ◑ 50 ◒ 75 ◓ 10 ◔ 20 × 100

GRAFICA-V
 DEL MODELO DE LA RAIZ CUBICA DE HIXON-CROWELL $(1-ft)^{1/3}$
 EN FUNCION DEL TIEMPO DEL LOTE 7F0943 PARA TABLETAS
 DE CLOROPROPAMIDA A DIFERENTES pH. \bar{X} (n=6)



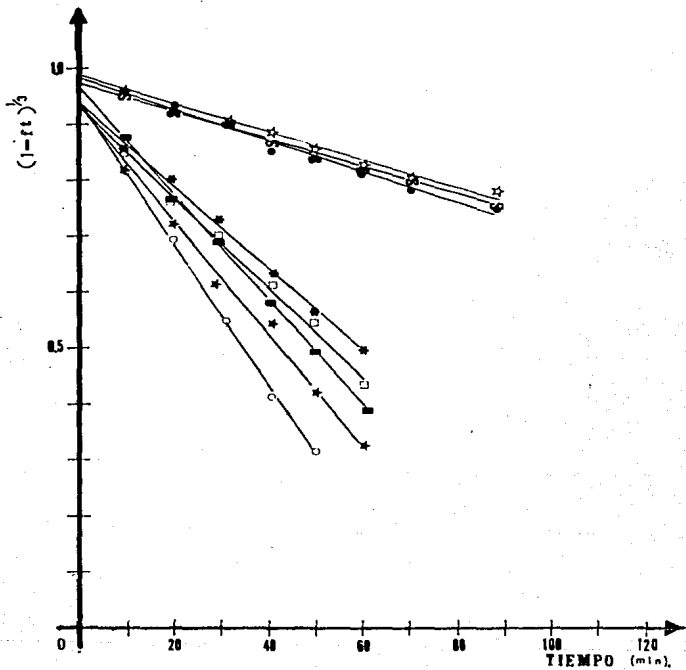
● 1.2 * 3.5 ○ 5.8 □ 7.0 ■ 8.0 ◆ 9.0 * 10.0

GRAFICA - VI
 DEL MODELO DE LA RAIZ CUBICA DE HIXON - CROWELL
 EN FUNCION DEL TIEMPO DEL LOTE 7F0044 PARA TABLETAS
 DE CLOROPROPAMIDA A DIFERENTES pH. $\bar{X}(n=6)$.



● 1.2 ✱ 3.5 ○ 5.8 ○ 6.8 □ 7.0 ✱ 8.0 — 9.0 ✱ 10.0

GRAFICA-VII
DEL MODELO DE LA RAIZ CUBICA DE HIXON-CROWELL $(1-ft)^{1/3}$
EN FUNCION DEL TIEMPO DEL LOTE 7F0962 PARA TABLETAS
DE CLOROPROPAMIDA A DIFERENTES pH. \bar{X} ($n=6$).



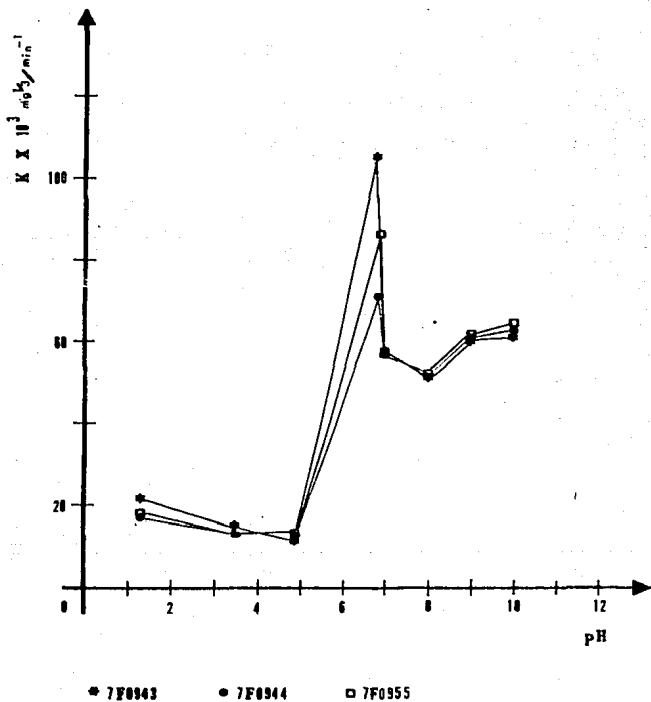
• 12 ☆ 35 ◊ 58 ○ 68 □ 70 ◆ 80 ■ 90 ★ 100

Constantes en función del pH

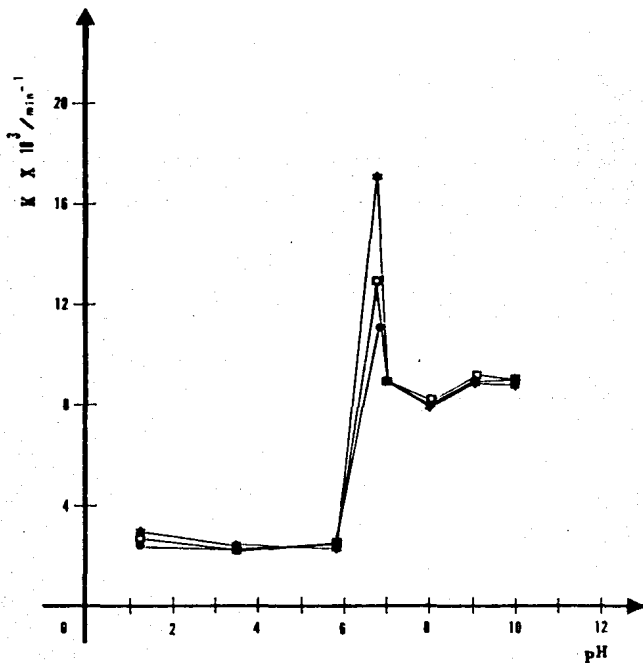
Tabla VI

Lote	pH	Constante de Hixon - Crowell $\times 10^3 \text{ mg}^{1/3}/\text{min}^{-1}$	Constante de liberación $\times 10^3 \text{ min}^{-1}$
7F0943	1.2	- 22.1381	- 3.5142
	3.5	- 16.0086	- 2.5412
	5.8	- 13.7086	- 2.1761
	6.8	-106.6813	-16.9346
	7.0	- 55.4498	- 8.8021
	8.0	- 49.0582	- 7.7875
	9.0	- 60.9462	- 9.6746
	10.0	- 61.7764	- 9.8063
7F0944	1.2	- 17.5998	- 2.7938
	3.5	- 14.2075	- 2.2553
	5.8	- 15.9386	- 2.5321
	6.8	- 75.2803	-11.9500
	7.0	- 55.0453	- 8.7379
	8.0	- 49.0695	- 7.7893
	9.0	- 62.1702	- 9.8689
	10.0	- 64.0606	-10.1690
7F0945	1.2	- 18.7363	- 2.9742
	3.5	- 14.0727	- 2.2339
	5.8	- 15.9443	- 2.5310
	6.8	- 84.3914	-13.3963
	7.0	- 54.8135	- 8.7011
	8.0	- 50.3968	- 8.0000
	9.0	- 63.2965	-10.0477
	10.0	- 66.9421	-10.6264

GRAFICA - VIII
CONSTANTE DE HIXON-CROWELL EN FUNCION DEL pH



GRAFICA -IX
CONSTANTE DE LIBERACION EN FUNCION DEL pH.



● 7F8943

● 7F8944

□ 7F8952

Validación del método de cuantificación en la prueba de disolución para tabletas de cloropropamida.

Validación; Es la determinación del grado de validez de un proceso de medición.

Para la validación se evaluó:

- Linealidad del sistema.
- Linealidad del método.
- Precisión y exactitud.
- Reproducibilidad.
- Estabilidad de la muestra.

LINEARIDAD DEL SISTEMA

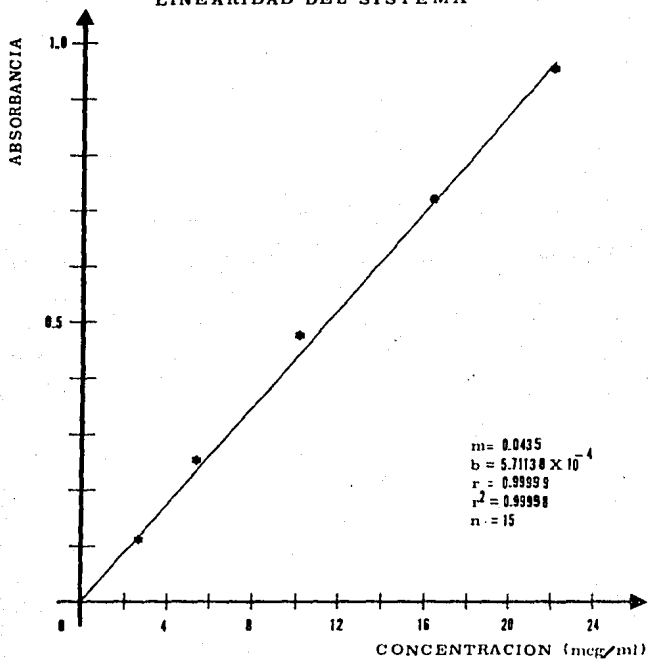
Se preparó una curva de calibración a partir de una solución concentrada de cloropropamida, de 2.777 mcg/ml a 22.216 mcg/ml, efectuando por triplicado diluciones para obtener el 25, 50, 100, 150 y 200%, respecto al contenido teórico de principio activo por tableta. (11.11mcg/ml).

Tabla VII

PORCIENTO ADICIONADO	ABSORBANCIA
25	0.121
	0.121
	0.122
50	0.242
	0.240
	0.242
100	0.483
	0.485
	0.484
150	0.723
	0.726
	0.727
200	0.965
	0.967
	0.965

GRAFICA-X

LINEARIDAD DEL SISTEMA



Conc (mcg/ml)	2.777	5.554	11.108	16.662	22.216
ABSORBANCIA \bar{x} (n=3)	0.121	0.242	0.484	0.725	0.966

Regresión.

Modelo utilizado $y = mx + b$ dónde:
 x = concentración de cloropropamida en mcg/ml.
 y = absorbancia.
 m = pendiente.

b = ordenada al origen.

Para este caso tenemos:

$$\begin{aligned} m &= 0.0435 & r &= 0.99999 \\ b &= 5.71138 \times 10^{-4} & r^2 &= 0.99998 \\ n &= 15 \end{aligned}$$

Intervalos de confianza.

$$\begin{aligned} \text{IC}_{95\%} \quad b &= 5.1138 \times 10^{-4} \pm 7.1080 \times 10^{-4} \\ & \quad (0.000139 \quad a \quad 0.001282) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{IC}_{95\%} \quad m &= 0.0435 \pm 9.9438 \times 10^{-5} \\ & \quad (0.04337 \quad a \quad 0.04357) \end{aligned}$$

Prueba de la ordenada al origen.

$$H_0 : b = 0$$

$$H_a : b \neq 0$$

Criterio : Si $t_c \leq t_{13gl.}^{95\%}$, aceptar H_0 .

$$t_c = 0.9370$$

$$t_{95,13}^{95\%} (\pm 2.160) .$$

El valor de $t_c \leq t_t$, está dentro del criterio de aceptación. Se acepta H_0 .

LINEARIDAD DEL METODO

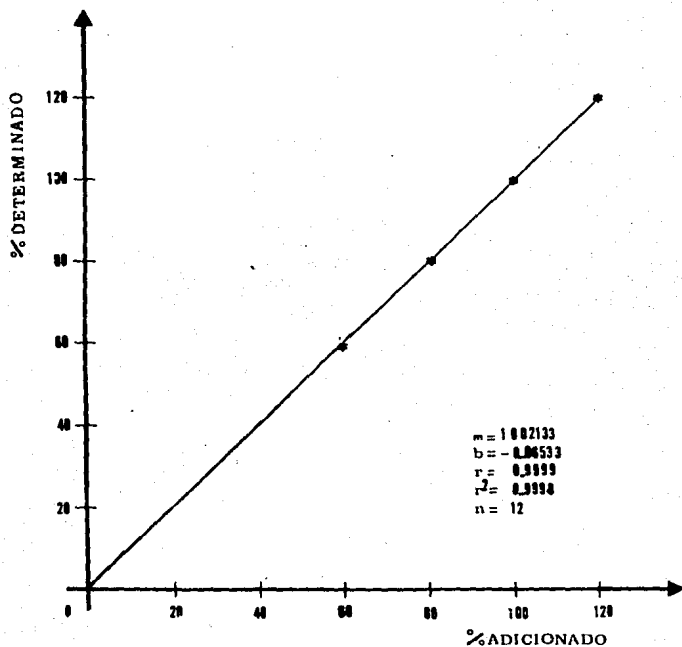
Para determinar la linealidad del método se efectuaron por triplicado de manera independiente la determinación al 60%, 80%, 100% y al 120% del contenido de cloropropamida por tableta.

Tabla VIII

PORCIENTO ADICIONADO	PORCIENTO DETERMINADO
60	59.05
	59.23
	59.61
80	79.80
	79.12
	78.80
100	99.59
	99.18
	99.36
120	119.79
	119.13
	119.26

GRAFICA XI

LINEARIDAD DEL METODO



% ADICIONADO	60	80	100	120
% DETERMINADO	58.38	78.57	99.38	119.39
$\bar{x}(n-1)$				

Regresión

Modelo utilizado $y = mx + b$ dónde:

x = porcentaje adicionado

y = porcentaje recuperado

m = pendiente

b = ordenada al origen

Para éste caso tenemos:

$$m = 1.002133 \quad r = 0.9999$$

$$b = -0.86533 \quad r^2 = 0.9998$$

$$n = 12$$

Intervalos de confianza

$$IC_{95\%} \quad b = -0.86533 \pm 0.22400 \\ (-0.64133 \text{ a } -1.089933)$$

$$IC_{95\%} \quad m = 1.0021 + 9.2273 \times 10^{-3} \\ (0.9929 \text{ a } 1.01136)$$

Prueba de hipótesis

- Prueba de la ordenada al origen.

$$H_0 : b = 0$$

$$H_a : b \neq 0$$

Criterio: Si $t_c \leq t_{10\%}^{95\%}$, se acepta H_0 .

$$t_c = 7.3898 \times 10^{-3}$$

$$t_{95,10} (\pm 2.228)$$

El valor de $t_c < t_t$, está dentro del criterio de aceptación. Se acepta H_0 .

- Prueba de la pendiente.

$$H_0 : m = 1$$

$$H_a : m \neq 1$$

Criterio: Si $t_c \leq t_{10\%}^{95\%}$, se acepta H_0 .

$$t_c = 9.7544 \times 10^{-4}$$

$$t_{95,10} (\pm 2.228)$$

El valor de $t_c < t_t$, está dentro del criterio de aceptación. Se acepta H_0 .

PRECISION Y EXACTITUD DEL METODO

Se evaluó el porcentaje de recobro de diez determinaciones.

Tabla IX

MUESTRA	PORCIENTO DE RECOBRO
1	100.81
2	100.60
3	98.70
4	99.30
5	99.19
6	98.99
7	99.39
8	100.00
9	99.80
10	100.00

$$n = 10 \quad \bar{X} = 99.687 \quad S = 0.6821$$

Limites de confianza para la media poblacional.

$$IC_{95\%} \quad \bar{X} = 99.687 \pm 2.262 \\ (99.199 \text{ a } 100.175)$$

Criterio: Si C.V. \leq 2%, se considera preciso para métodos "in vitro".

$$C.V. = 0.6842 \%$$

Criterio: $\bar{X} = 98\% - 102\%$. Promedio de recobro, se considera exacto.

Prueba de hipótesis.

$$H_0 : X = U = 100$$

$$H_a : X \neq U$$

Criterio: Si $t_c \leq t_t$ 95%, se acepta H_0 .

$$t_c = -0.8160 \quad t_t = 981.$$

$$t_{95,9} (\pm 2.261)$$

El valor de $t_c \leq t_t$, está dentro del criterio de aceptación. Se acepta H_0 .

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad se midió, llevando a cabo el análisis en diferentes días y por diferentes analistas.

Tabla X Resultados de la reproducibilidad del método.

DIA (Dj)	ANALISTA 1 (A1)	ANALISTA 2 (A2)
1	98.36	98.99
	98.59	98.34
	98.19	98.59
2	98.79	99.19
	98.39	98.79
	98.59	98.72

ANALISIS DE VARIANZA

Tabla Xa

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F _c
Analista (A _i)	1	0.234375	0.234375	3
Día (D _j)	2	0.15625	0.078125	1.23
Error	8	0.5078125	0.347X10	
Total	11			

Reproducibilidad del método = 98.6275 ± 0.4938

Reproducibilidad entre días para el analista
= 98.6275 ± 0.13625

Reproducibilidad entre analistas
= 98.6275 ± 0.31629

$F_t (95\%) = 5.32$

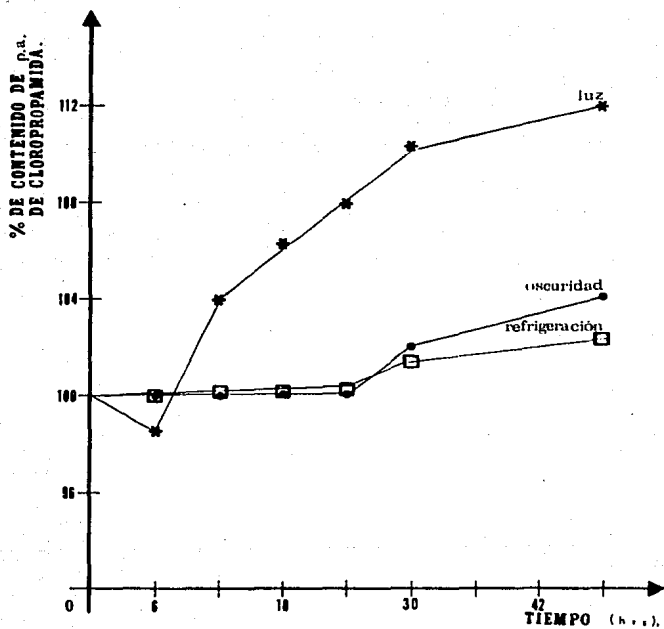
Criterio: Si $F_c \leq F_t$. Existe efecto significativo.

El valor de $F_c < F_t$

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Se determinó la estabilidad de la muestra mediante un re cobro de la muestra al 100% antes de efectuar la lectura de la absorbancia por triplicado, de manera independiente. Posteriormente se dejó por 48 hrs. la muestra a la oscuridad, re frigeración y radiaciones de luz blanca, evaluando el % de contenido de principio activo de cloropropamida a las 6, 12, 24, 30 y 48 horas.

GRAFICA—XII
ESTABILIDAD DE LA MUESTRA DE CLOROPROPAMIDA



Capítulo V.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 Características de Control de Calidad.

Como se observa en la tabla I y la, las pruebas de Control de Calidad realizadas a el principio activo de cloropropamida y a los tres lotes de tabletas estudiados cumplen con las especificaciones establecidas en la USP XXI (1) y del laboratorio.

5.2 Estudio de disolución.

Por medio del diseño de bloques aleatorios se determinó, si existía diferencia significativa de disolución entre pH (tratamientos) y lotes (bloques). En la tabla II de ANOVA, se observa que para tratamientos la F_c es mayor que la F_t , con un nivel de significancia de 1 %, con gl. (7,14) y para bloques, la F_c es menor que la F_t , con un nivel de significancia de 1 %, con gl. (2,14). Estableciéndose que existe diferencia significativa de disolución entre pH (tratamientos) y no existe diferencia significativa de disolución entre lotes (bloques), es decir que hay un control de fabricación de lote a lote.

Se puede corroborar lo anterior de una forma cualitativa, al observar la gráfica I, en donde se examina el comportamiento obtenido en el porcentaje disuelto para tabletas de cloropropamida a los 60 minutos en función del pH. El porcentaje disuelto varía considerablemente en función de los cambios de pH. A pH de 1.2 a 5.8 es poco perceptible la variación que se da (recta casi horizontal) obteniéndose el porcentaje disuelto más alto a pH = 6.8 (pico hacia arriba), a pH de 8.0 hay un decremento (pico hacia abajo), aunque posteriormente el porcentaje disuelto se incrementa a pH 9.0 y 10.0. Actualmente la prueba de disolución de la USP XXI (1), para tabletas de cloropropamida especifica que no debe disolverse menos de 75% de cloropropamida a los 60 minutos. A pH mayores o iguales a 6.8 cumplen con lo estipulado, en cambio a pH de 1.2, 3.5 y 5.8 no pasan con esa condición de disolución propuesta por la

USP XXI (1). El estudio de disolución del principio activo sirvió para determinar que el comportamiento de disolución obtenido a los diferentes pH es similar que en los lotes trabajados.

En las gráficas II, III, IV, correspondientes a los tres lotes, se determinó el perfil de disolución para tabletas de cloropropamida a diferentes pH, para establecer el comportamiento que sigue. En todos los pH el comportamiento es el de una curva logarítmica. Se observa que todas las curvas se concentran en dos secciones. En una sección están las curvas a pH 1.2, 3.5, 5.8 y en la otra sección que son valores mucho más altos, están las curvas a pH 6.8, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, siendo el perfil de disolución mayor a pH 6.8.

5.3 Determinación de modelo.

En las tablas II, III, IV, muestran los resultados promedio ($n=6$), obtenidos para tabletas de cloropropamida a los 10', 20', 30', 40', 50', 60', 70', 90' y 120' de los lotes trabajados a diferentes pH. En las correspondientes columnas se encuentran, el porcentaje disuelto (%D), miligramos disueltos (mg), cantidad remanente (W), fracción liberada (ft), con el fin de determinar el modelo al que se ajusta; orden cero, primer orden, raíz cúbica.

Se determinó por comparación de r^2 , b, de cada modelo, que los datos obtenidos se ajustaron al modelo de la raíz cúbica además de cumplir con las características propias de este modelo como son; La disminución gradual de la partícula esférica cuando esta se va disolviendo, además de tener una integración rápida.

En las gráficas V, VI, VII, correspondientes a los tres lotes de tabletas de cloropropamida con la aplicación del modelo de la raíz cúbica de Hixson-Crowell, se observa que las pendientes de cada recta (pH) de mayor a menor, son en el siguiente orden:

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

pH 6.8 > 10.0 > 9.0 > 7.0 > 8.0 > 1.2 ≈ 5.8 ≈ 3.5 . El valor de estas pendientes corresponden a las constantes de velocidad de liberación en función de la fracción, siendo el valor mayor a pH 6.8 (tabla VI). Esto se observa más claramente en la gráfica VIII y IX. A pH de 1.2 a 5.8 los valores de las constantes no varían significativamente. En cambio a pH mayores de 5.8, la variación en los valores de las constantes es más notable, siendo más marcada en el intervalo de pH 6 - 7 en el cual con mínimas variaciones de pH, causa grandes cambios en las constantes, por consiguiente hay que tener cuidado al trabajar en estas condiciones.

5.4 Validación.

La validación se llevó a cabo para el medio de disolución a pH = 6.8 puesto que se determinó que la cinética de disolución es mayor a ese pH.

5.4.1 Linealidad del sistema.

La determinación de cloropropamida en el medio de disolución a pH = 6.8 mostró, utilizando el método espectrofotométrico, que el sistema es lineal en el intervalo de concentraciones de 2.777 mcg/ml a 2.216 mcg/ml, (gráfica X). Esta linealidad se apoya con un análisis estadístico, con un coeficiente de correlación promedio de 0.99999 el cual se acerca a una línea recta, utilizando el método de mínimos cuadrados. Por otro lado se obtuvieron intervalos de confianza para la ordenada al origen y pendiente, además se hizo una prueba de hipótesis para la ordenada al origen por medio de una prueba "t" siendo el valor de t_c menor que el valor $t_{0.95}$ con 13 gl, lo cual indica que el resultado obtenido no es significativamente diferente de cero, para el nivel de confianza y grados de libertad trabajados. Por consiguiente este análisis indica un sistema lineal.

5.4.2 Linealidad del método.

La linealidad del método (gráfica XI), se hizo por el método de mínimos cuadrados, con un coeficiente de correlación promedio de 0.9999, cuyo valor se acerca a una línea recta, se obtuvieron los intervalos de confianza para la ordenada al origen y pendiente, de acuerdo a las pruebas de hipótesis realizadas tanto para el intercepto como para la pendiente, los resultados obtenidos pueden considerarse cero y uno respectivamente de acuerdo al nivel de confianza y grados de libertad trabajados. Por consiguiente esto indica un método lineal satisfactorio.

5.4.3 Precisión y exactitud.

Se evaluó considerando los datos de porciesto recobrado. Se analizaron por medio de la prueba "t" para media. Los valores de t_c y de $t_{0.95}$, con 9 gl, muestran que están dentro del criterio de aceptación, con un intervalo de confianza de 99.199 a 100.175%. Además tiene un coeficiente de variación de 0.684% que es menor al coeficiente de variación del 2% que está considerado como el valor límite para métodos "in vitro". El otro criterio para exactitud $\bar{X} = 98\% - 10\%$ promedio de recobro el cuál está dentro de este criterio. Por consiguiente se considera evidencia suficiente para inferir que el método es preciso y exacto.

5.4.4 Reproducibilidad.

La reproducibilidad se midió, llevado a cabo el análisis en diferentes días y por diferentes analistas. Se probó el efecto de cada uno de los tratamientos (analista, día), con la ayuda de la tabla ANOVA (tabla Xa.) considerando como criterio la prueba "F". El valor de F_c es menor que el valor de F_t , con un nivel de significancia de 95%, con 1 gl. Por consiguiente se considera evidencia suficiente para apoyar que el método es reproducible al no apreciar efecto alguno de ninguna fuente de variación.

5.4.5 Estabilidad de la muestra.

La gráfica XII, corresponde a la estabilidad de la muestra sometida a la oscuridad, refrigeración y radiaciones de luz blanca a las 6, 12, 18, 24, 30 y 48 horas. Se observa que a las 24 horas, el porcentaje de contenido de principio activo de cloropropamida permanece casi invariable en la oscuridad y refrigeración, aunque posteriormente varía el contenido de principio activo con el tiempo. En cambio, con las radiaciones de luz blanca a las 6 horas se ve afectado el porcentaje de contenido de principio activo de cloropropamida, el cual ha disminuido, incrementándose después estos valores con respecto al valor original el porcentaje de contenido de principio activo de cloropropamida, aproximadamente un 1%. Por consiguiente es recomendable que al obtener las muestras se lean en el espectrofotómetro enseguida, sino fuese posible, guardar las muestras protegidas de la luz, para obtener unos datos confiables.

Capítulo VI.

CONCLUSIONES

- Los tres lotes de tabletas de cloropropamida y el principio activo analizados cumplieron con las especificaciones de Control de Calidad de la USP XXI (1) y del Laboratorio.
- La prueba de disolución mostró que a pH 1.2, 3.5, 5.8, no cumple con la condición de la USP XXI (1). En cambio a pH 6.8, 7.0, 8.0, 9.0 y 10.0, sí cumplen con la condición (no menos del 75 % a los 60 minutos). Obteniéndose un perfil de disolución mayor a pH = 6.8.
- No se encontró diferencias de disolución entre lotes. En cambio sí existe diferencias de disolución entre pH, debido principalmente a la solubilidad del principio activo de cloropropamida en los diferentes medios de disolución de pH.
- En base a los datos obtenidos se puede determinar que el comportamiento del fármaco se ajusta al modelo de la raíz cúbica de Hixon-Crowell, con el cuál se caracterizó el comportamiento cinético de disolución del fármaco.
- La mayor constante de liberación se obtiene a pH = 6.8
- El método espectrofotométrico cumple con los requerimientos de linealidad, exactitud, precisión y reproducibilidad, para las concentraciones trabajadas así como el nivel de confianza y grados de libertad fijados.
- Las muestras de disolución de cloropropamida son más estables cuando se protegen de la luz.

Capítulo V

BIBLIOGRAFIA

1. The United States Pharmacopeia XXI. The National Formulary XVI. Meck Pub. Co. Easton, Pa. Pennsylvania 206 - 207 , 1242 - 1245 , 1419 - 1420 (1985).
2. British Pharmacopeia. Volume 1 Her Majesty's Stationary Office England 748 (1980).
3. AIACHE, J.M. et. al., "Biofarmacia" El Manual Moderno, México, D.F. 19, 130-150 (1982).
4. WAGNER, J.G., "Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics" Drug Intelligence Publications, Hamilton, USA 99, 115-116 (1971).
5. NOYES, A.A. and WHITNEY, W.R., J. Am. Chem. Soc., 19:930 (1897)
6. ALONSO, V., "Apuntes Sobre Teorías de Disolución". PES-Cuautitlán (1986).
7. BERNST, W. and BRUNNER, R.E., Zeit. Phys. Chem., 47:54 (1904).
8. HIXON, A.W. and CROWELL, J.H., Ind. Eng. Chem., 43:923 (1931).
9. DANCKWERTS, P.V., Ind. Eng. Chem., 43:1460 (1951).
10. NIEBERGAILL, P.J. and GOYAN, J.E., J. Pharm. Sci., 52: 29 (1963).
11. TOOR, H.L. and MANGHELLO, J.M., A.I.Ch.E. Journal., 4:97 (1958).
12. WEDICH, R.L. and KILDIG, D.O., J. Pharm. Sci. 61:214 (1972).
13. RAGGIN, A.N. and et.al., "Physical Pharmacy" 3^o ed. Lea-Febiger, Philadelphia 401-402, (1983).
14. SKELLY, J., J. Clin. Pharmacol., 16:539 (1976).

15. REMINGTON, "Farmacia" Tomo I.
Médica Panamericana, Buenos Aires Argentina. 896-901
(1987).
16. GARCIA, C.R., GARZON, A., GARISOAIN, Ma. de Jesús.
" Aspectos Prácticos de Biofarmacia"
Farmatrix, Capítulo 8 (1977).
17. RIEGELMAN, S., Pharmacology., 8:118 (1972).
18. MARTINDALE, "The Extra Pharmacopeia"
The Pharmaceutical Press 27th Ed. London 809-812 (1977).
19. The Merck Index
Tenth Edition Merck. Co. Inc. USA 309 (1983).
20. CLARKE, E.G.C., "Isolation and Identification of Drugs"
Pharmaceutical Press, Great Britain, 257-258 (1973).
21. GOODMAN y GILMAN., et.al., "Las Bases Farmacológicas de
la Terapéutica", Médica Panamericana, Buenos Aires Argen-
tina 1425-1429 (1986).
22. LITTE MANUEL., "Farmacología Experimental y Clínica".
El Ateneo 5^o Ed. Buenos Aires Argentina 989-998 (1977).
23. SNEDCOR, G.W. and COCHRAN, W.G., "Métodos Estadísticos"
Contiental, México Capítulo 6 (1979).
24. ROBERT JOHNSON, "Estadística Elemental"
Trillas México, 369-378 (1982).