

Nº 132
201



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química

PROPAFENONA TABLETAS, DESARROLLO
Y VALIDACION DE METODOS ANALITICOS
PARA CONTROL DE CALIDAD Y ESTABI-
LIDAD.

T E S I S
Que para obtener el Título de
Químico Farmacéutico Biólogo
p r e s e n t a
Oscar Javier Rivera Rodríguez



México, D. F.

1992

PLATA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

INDICE	1
INTRODUCCION	4
GENERALIDADES	
CAPITULO I	7
ELECTROFISIOLOGIA CARDIACA	
ELECTROFISIOLOGIA DEL RITMO CARDIACO NORMAL	7
POTENCIAL DE REPOSO	8
POTENCIAL DE ACCION	9
Base ionica del potencial de acción	11
EXITABILIDAD Y REFRACTARIEDAD	14
RESPUESTA Y CONDUCCION	18
MARCAPASO Y TEJIDO DE CONDUCCION	17
EL ELECTROCARDIOGRAMA	22
CAPITULO II	25
MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS Y DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS	
MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS CARDIACAS	25
ARRITHIAS POR REINGRESO	28
EL SINDROME DE WOLFF PARKINSON WHITE WPW	31
ARRITHIAS POR PERIODO REFRACTARIO BREVE	33
CLASIFICACION DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS	34
MECANISMOS DE ACCION PARA LAS DISTINTAS	
CLASES DE FARMACOS ANTIARRITMICOS	37
USOS Y EFECTOS INDESEABLES DE ALGUNOS	
FARMACOS ANTIARRITMICOS	43
CAPITULO III	45
FARMACOLOGIA DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA	
FARMACOCINETICA	46
ABSORCION Y METABOLISMO PRESISTEMICO	46
DISTRIBUCION	51
ELIMINACION	51

<i>METABOLISMO</i>	52
<i>FARMACODINAMIA</i>	55
<i>MECANISMO DE ACCION</i>	55
Bloqueo del canal rápido de sodio	55
Bloqueo β -adrenergico	60
<i>SUPRESION DE ARRITHIAS</i>	62
<i>CONDUCCION INTRACARDIACA</i>	69
<i>EFFECTOS ADVERSOS Y CONTRAINDICACIONES</i>	70
CAPITULO IV	73
PROPIEDADES Y PERFIL ANALITICO DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA	
<i>INFORMACION BIBLIOGRAFICA</i>	73
<i>INFORMACION EXPERIMENTAL</i>	75
PARTE EXPERIMENTAL	
CAPITULO V	79
DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD	
<i>DESARROLLO DEL METODO ANALITICO</i>	79
<i>ELECCION DE LA TECNICA A UTILIZAR</i>	79
<i>DISEÑO DEL METODO</i>	79
<i>TECNICA ANALITICA</i>	80
<i>RESULTADOS DE LA VALIDACION</i>	82
<i>ESPECIFICIDAD DEL METODO</i>	82
<i>LINEARIDAD DEL SISTEMA</i>	86
<i>PRECISION DEL SISTEMA</i>	88
<i>LINEARIDAD DEL METODO</i>	89
<i>EXACTITUD Y PRECISION DEL METODO AL 100 %</i>	92
<i>ESTABILIDAD DE LA MUESTRA</i>	93
<i>PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)</i>	94
CAPITULO VI	96
DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD	
<i>DESARROLLO DEL METODO</i>	96
<i>ELECCION DE LA TECNICA ANALITICA A UTILIZAR</i>	96

OBJETIVOS PARA EL DESARROLLO	98
CRONOLOGIA Y RESULTADOS PARA EL DESARROLLO	101
TECNICA ANALITICA	111
RESULTADOS DE LA VALIDACION	113
ESPECIFICIDAD DEL METODO	114
LINEARIDAD DEL SISTEMA	117
PRECISION DEL SISTEMA	119
LINEARIDAD DEL METODO	120
EXACTITUD Y PRECISION DEL METODO AL 100 %	123
ESTABILIDAD DE LA MUESTRA	124
PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)	125
CAPITULO VII	127
COMPARACION DE LOS METODOS ANALITICOS	
REPETIBILIDAD DEL METODO AL 100 %	128
REPETIBILIDAD EN EL INTERVALO DEL 75 AL 125 %	130
EXACTITUD DEL METODO AL 100 %	132
EXACTITUD EN EL INTERVALO DEL 75 AL 100 %	135
LINEARIDAD DEL METODO	137
REPRODUCIBILIDAD DEL METODO	142
CAPITULO VIII	144
DISCUSION DE RESULTADOS	
DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD	144
DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD	150
CONCLUSIONES	157
BIBLIOGRAFIA	160

INTRODUCCION

En la actualidad se encuentran incluidos ocho fármacos antiarrítmicos en el cuadro básico de medicamentos. de éstos, el de más reciente inclusión es el clorhidrato de propafenona, el fármaco que se estudió en el trabajo que aquí se presenta.

La inclusión de este principio activo en el cuadro básico, es de gran importancia, dado que incrementa el uso de éste a nivel nacional, lo cual hace necesario que exista bibliografía en español para facilitar el estudio farmacológico, terapéutico y toxicológico del clorhidrato de propafenona. Es por esto que el capítulo III de este informe, incluye una breve recopilación de las principales características farmacológicas y toxicológicas de este fármaco. Como base para dicho capítulo, y con el fin de facilitar el estudio del tema de agentes antiarrítmicos a los estudiantes de la Facultad de Química, en los dos primeros capítulos se presentan las bases de la electrofisiología cardíaca, y los mecanismos de las arritmias cardíacas así como de los fármacos antiarrítmicos, estos temas tratados en forma sencilla, sin que esto vaya en detrimento de la profundidad con la que se presentan los temas.

En relación a la parte experimental, se desarrollaron dos técnicas analíticas, una espectrofotométrica, destinada a la cuantificación del clorhidrato de propafenona en tabletas para el control de calidad del producto. La segunda técnica fue desarrollada en base a la cromatografía líquida de alta resolución, y diseñada para la cuantificación del clorhidrato de propafenona en forma específica, durante el estudio de estabilidad de la forma farmacéutica. El desarrollo de estas técnicas fue motivado por el hecho de que no se encuentran métodos descritos en los libros oficiales, para el análisis de este fármaco, y a que las técnicas encontradas en la literatura solo son aplicables para la cuantificación del fármaco en sangre.

Las dos técnicas desarrolladas fueron validadas cumpliéndose los requisitos de especificidad, exactitud y precisión. En este informe, se incluye un resumen de lo que fue la fase de desarrollo, y se presentan los resultados obtenidos de la validación. Se realizó además una comparación estadística de los dos métodos desarrollados, encontrando que no existen diferencias significativas en la linealidad y exactitud de los métodos, sin embargo, en la reproducibilidad se detectó una diferencia estadísticamente significativa que indica que el método diseñado para el control de calidad es más preciso que el indicativo de estabilidad, aún cuando este último es bastante preciso (El

coeficiente de variación total fue de 1.8 % en el estudio de reproducibilidad).

En el capítulo VII se detallan los cálculos efectuados para la comparación de los métodos analíticos, a fin de que sirvan de guía a otras personas.

CAPITULO I

ELECTROFISIOLOGIA CARDIACA

ELECTROFISIOLOGIA DEL RITMO CARDIACO NORMAL

El impulso eléctrico que desencadena una contracción cardíaca normal se origina a intervalos regulares en el nodo sinoauricular (SA) (fig. 1-1), por lo general a una frecuencia de 80 a 100 latidos por minuto.⁴ Este impulso se esparce con rapidez a través de las aurículas y entra al nodo aurículo ventricular (AV), el cual es normalmente la única vía de conducción entre las aurículas y los ventrículos. La conducción a lo largo del nodo (AV) se propaga por el sistema His-Purkinje e invade todas las secciones de los ventrículos. La activación es completa en menos de 0.1 seg.; por lo tanto, la contracción de todo el músculo ventricular es sincrónica y hemodinámicamente eficaz.⁵

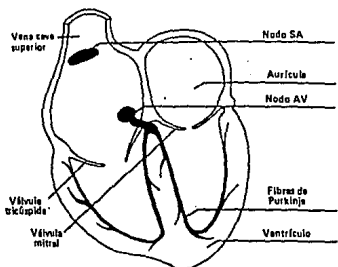


Fig. 1-1 Representación esquemática del corazón

POTENCIAL DE REPOSO

Existe una diferencia de voltaje a través de la superficie de membrana de todas las células cardiacas, el voltaje de *transmembrana en reposo* (V_m). Para la mayor parte de las células cardiacas, el voltaje de *transmembrana en reposo* es aproximadamente de -80 a -90 mV con respecto al líquido extracelular.² Los gradientes para los iones como el Na^+ y el K^+ se establecen por transporte activo. Los valores típicos de concentraciones de iones en células miocárdicas (i) y en líquido extracelular (e) (en milimoles por litro de agua) son: $[\text{K}]_i=150$, $[\text{K}]_e=4.0$, $[\text{Na}]_e=140$ y $[\text{Na}]_i=30$.² Si no hubiera gradiente de potencial a través de la membrana y ésta fuera semipermeable a un ion como el K^+ , éste último debería difundir fuera de la célula hasta alcanzar concentraciones iguales dentro y fuera. Sin embargo, la bomba de intercambio Na^+ y K^+ contrarresta las fuerzas de difusión. Cuando estas fuerzas son iguales, no hay flujo neto de iones.²

La ecuación de Nernst puede resolverse para el voltaje que mantiene el gradiente de concentración de *transmembrana* existente en un valor constante Cel voltaje de equilibrio V_x , para un ion X):

$$V_x = \frac{RT}{F} \ln \frac{[X]_o}{[X]_i}$$

donde $[X]_o$ es la concentración del ion en el líquido extracelular, $[X]_i$ es la concentración intracelular, R es la constante de los gases, T es la temperatura absoluta y F es la constante de Faraday. Al sustituir las concentraciones de cada ion por separado, enumeradas anteriormente; se obtienen las siguientes diferencias de potencial: $V_k = -97$ mV y $V_{Na} = +40$ mV. Como la membrana en reposo es principalmente permeable al K^+ el voltaje de transmembrana en reposo está próximo a V_k . Sin embargo, otros iones como el Na^+ efectúan una pequeña contribución al voltaje de transmembrana en reposo.²

POTENCIAL DE ACCION

Cuando las células cardíacas se excitan se produce una compleja secuencia de cambios de voltaje en función del tiempo y el voltaje, debidos a variaciones en las conductancias iónicas a través de la membrana. Un potencial de acción de transmembrana típico de una fibra de Purkinje se presenta en forma de diagrama en la figura (1-2A). El potencial de acción se divide en fases con fines descriptivos y explicativos.²

Fase 0: Rápida despolarización y reversión del voltaje de transmembrana.

Fase 1: Rápida repolarización hasta el nivel de meseta de voltaje.

Fase 2: Nivel despolarizado prolongado o meseta de potencial de acción.

Fase 3: Rápida repolarización a niveles de reposo (diastólico) del voltaje de transmembrana.

Fase 4: Curso de tiempo del voltaje diastólico.

Muchas células del corazón normal tienen potenciales de acción que difieren notablemente de los de la fibra de Purkinje. Por ejemplo, las células de los nodulos sinusal y auriculoventricular tienen una fase 0 de ascenso muy lento, y las fases 1, 2 y 3 no pueden distinguirse claramente entre sí (fig.1-2B).

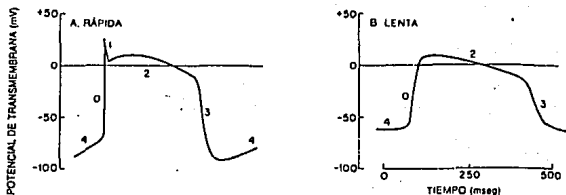


Fig. 1-2 Representación diagramática de las respuestas rápidas y lentas de fibras cardíacas de mamíferos.

A. Respuesta rápida. Las fases de la respuesta rápida normal se muestran aquí: despolarización (0), repolarización (1,2,3) y la fase diastólica (4). Obsérvese la despolarización espontánea de fase 4 en este ejemplo. La velocidad de aumento de la fase 0 es rápida y la propagación también.

B. Respuesta lenta. La respuesta lenta se inicia desde un nivel reducido (menos negativo) de voltaje diastólico de la transmembrana, muestra despolarización lenta y tiene larga duración. Este potencial de acción se propaga con gran lentitud y deja una larga estela refractaria.

Por otra parte muchas células mantienen un voltaje sostenido durante la fase 4 mientras que otras muestran despolarización espontánea durante este periodo. Las fibras automáticas del nódulo sinusal y del sistema His-Purkinje llegan a un valor máximo de V_m al final de la repolarización espontánea progresiva. Si el V_m alcanza el voltaje umbral crítico se produce excitación.

La velocidad de descarga de una célula automática está determinada por:

- 1) el valor del voltaje diastólico máximo
- 2) la pendiente de despolarización de fase 4
- 3) el valor del voltaje umbral.

Se le denomina *marcapaso* a la célula o grupo de células que experimenta autoexcitación mediante este proceso e inicia un impulso que se propaga al resto del corazón.

Aunque muchas fibras pueden sufrir despolarización de fase 4, la propagación de la excitación del impulso sinusal interrumpe este proceso en casi todas las células antes de alcanzar el umbral; estas células se denominan *marcapasos latentes*.²

BASE IONICA DEL POTENCIAL DE ACCION CARDIACO

FASE 0: En casi todas las células cardiacas, la fase 0 está generada por el movimiento de Na^+ a través de los canales que permiten selectivamente la penetración de este ion; se activan con dependencia del voltaje cuando el impulso cardiaco en propagación o la despolarización espontánea de fase 4 hace que la así llamada

puerta *m* del canal se abra. La corriente hacia adentro de Na^+ (i_{Na}) es muy intensa pero muy breve; finaliza por un proceso llamado inactivación: el cierre rápido de una puerta hipotética, (la puerta *h*) en el canal de sodio (fig. 1-3). Después de la inactivación, el canal de sodio no puede volver a abrirse si no se reactiva durante la repolarización de la fase 3 y después de ella. Así, el canal de sodio puede existir en uno de tres estados; reposo, activo o inactivado.²

Un pequeño número de los canales de sodio pueden inactivarse lentamente o permanecer abiertos durante la meseta de potencial de acción, permitiendo el flujo de una pequeña corriente residual de sodio.²

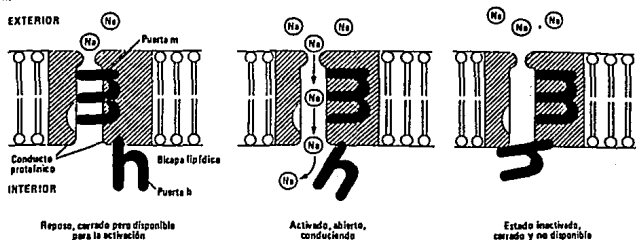


Fig. 1-3 Esquema del conducto cardíaco del sodio. El conducto (área sombreada) es una proteína que une la bicapa lipídica de la membrana. En el reposo, con membrana totalmente polarizada (izquierda), la puerta *h* está abierta y la puerta *m* está cerrada, impidiendo cualquier movimiento de los iones sodio a través del conducto. Con un estímulo apropiado, la puerta *m* se abre permitiendo una entrada rápida de los iones sodio (central). Después de unos milisegundos, la puerta *h* se cierra, cortando la corriente del sodio (derecha). Estímulos adicionales aplicados al conducto inactivado no pueden abrirlo (la puerta *h* está cerrada; por lo tanto, no está disponible). Se desconoce la forma real del conducto y de las puertas, lo que se muestra aquí es solamente simbólico. El área clara en el extremo inferior izquierdo del conducto es una posible ubicación para un receptor de anestésicos locales.

FASE 1: La repolarización rápida hasta la meseta del potencial de acción se debe a varios factores: las propiedades eléctricas pasivas de las fibras de Purkinje, la inactivación de i_{Na} y la activación de una corriente transitoria hacia afuera de $K^+(i_{qr})$.

FASE 2: La meseta del potencial de acción es uno de los rasgos característicos más excepcionales del potencial de acción cardiaco. La conductancia de la membrana se reduce durante la meseta a valores menores que los observados durante la diástole (fase 4). El canal de Ca^{++} o lento se activa durante la meseta, lo cual provoca una corriente hacia adentro de $Ca^{2+}(i_{sl})$, esta se inactiva de manera analoga a i_{Na} , pero la constante de tiempo para la inactivación de i_{sl} es mucho mayor (50 mseg en comparación con 0.5 mseg). Por lo tanto, i_{sl} se interrumpe lentamente durante la meseta.²

FASE 3: Una corriente hacia afuera dependiente del tiempo, (i_{x1}) desempeña un papel importante en la finalización de la meseta y la repolarización de la fibra a valores diastólicos normales de voltaje de transmembrana. Esta corriente es transportada principalmente por K^+ , pero también por otro ion o iones no especificados. La i_{x1} se activa, (el canal X_1 se abre), a unos -40 mV, con una constante de tiempo de 0.5 segundos aproximadamente. Al terminar la meseta i_{x1} ha llegado a un valor considerable, y i_{sl} se ha atenuado. La fase 3 es principalmente producto de la i_{x1}

activada en presencia de la i_{Na} que se inactiva gradualmente. La i_{K1} es desactivada totalmente, (el canal K_1 se cierra), cuando los valores de V_m se vuelven inferiores a -50 mV. Esto significa que i_{K1} se desactiva rápidamente al finalizar la repolarización.²

FASE 4: En muchas células, (músculo ventricular o auricular común), el V_m es constante durante la diástole, estas células están en reposo indefinido hasta que se activan con un impulso en propagación o un estímulo externo. Sin embargo, como ya se mencionó, otras células muestran despolarización espontánea de fase 4 y autoexcitación (fig 1-2). Este tipo de comportamiento es característico del sistema de His-Purkinje. Varias corrientes iónicas modulan el automatismo normal: dos corrientes que no cambian con el tiempo, una corriente de fondo hacia afuera (i_{K1}), una corriente de fondo hacia adentro (i_{b1}), y una corriente que depende del tiempo, la corriente marcapaso, (que puede ser i_{K2} o i_p).²

EXCITABILIDAD Y REFRACTARIEDAD

La *excitabilidad* se mide tradicionalmente en términos de la fuerza de un pulso eléctrico requerido para excitar al corazón. La significación funcional de los cambios de excitabilidad es generalmente difícil de determinar. Por lo tanto, aquí no se dará mayor importancia a los efectos de los fármacos antiaritmicos sobre la excitabilidad. La *refractariedad* se ha definido en muchas

formas diferentes; en este trabajo se usa dicho término refiriéndose en general a la duración del *periodo refractario efectivo* (PRE)², que es el intervalo mínimo entre dos respuestas que se propagan. En casi todas las células cardíacas el PRE está estrechamente relacionado con la *duración del potencial de acción* (DPA) por que la recuperación de la inactivación del canal de Na^+ es paralela a la repolarización.

Los fármacos antiarrítmicos pueden prolongar el PRE, con relación a la DPA en muchos tipos de células cardíacas.²

A menudo puede encontrarse un periodo durante la última parte de la repolarización en el que el umbral de estimulación eléctrica es menor que el valor hallado en la diástole después de la recuperación total; este periodo de *excitabilidad supernormal* se ha considerado como una respuesta paradójica. Una explicación de este fenómeno se ha encontrado para las fibras cardíacas de Purkinje y puede aplicarse también a otros tipos de células. En las fibras de Purkinje, hacia el final de la repolarización, el V_m está más cerca del voltaje umbral que después de la repolarización total. Por lo tanto, durante la última parte de la repolarización de fase 3, un pulso eléctrico mas pequeño que el que sería necesario durante la diástole sería capaz de llevar la membrana al voltaje umbral.

RESPUESTA Y CONDUCCION

El término *respuesta de la membrana* se usa para describir la respuesta de una fibra cardiaca a un estímulo, (un potencial de acción que se propaga o un pulso eléctrico aplicado). Las fibras cardiacas no recuperan toda su capacidad para desarrollar una respuesta normal hasta que la repolarización es completa. Los cambios de la velocidad máxima de despolarización durante la fase 0 (V_{max}) sirven como índice de los cambios de disponibilidad del sistema de conductancia al Na^+ o del grado de recuperación de la inactivación del canal de Na^+ . La V_{max} en fase 0 es un importante determinante de la velocidad de conducción y el bloqueo de impulsos prematuros.²

La constante de tiempo para esta recuperación de los canales de Na^+ es mucho más larga:²

- 1) con valores más positivos de V_m ;
- 2) durante el tratamiento con fármacos antiaritmicos, y
- 3) en las membranas alteradas por enfermedad.

La relación en forma de "S" entre la V_{max} y el V_m (fig. 1-4) es típica no solo de las fibras cardiacas de Purkinje sino también del músculo auricular y ventricular.²

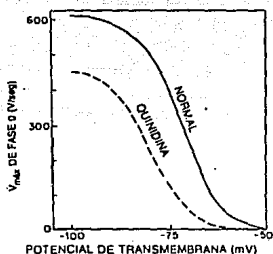


Fig. 1-4 Respuesta de la membrana. Se representa la respuesta de la membrana en una fibra cardíaca de Purkinje. La velocidad máxima de aumento de la despolarización durante la fase 0 se grafica como una función del voltaje de transmembrana en el momento de la activación. La línea continua muestra la relación en condiciones normales, y la línea a trazos muestra el efecto de una concentración moderada a elevada de quinidina. Esta última desplaza la relación sobre el eje del voltaje, de modo que se obtiene una respuesta reducida a cualquier nivel dado de voltaje de transmembrana. Además se reduce el índice máximo de despolarización.

MARCAPASO Y TEJIDO DE CONDUCCION

La acción impulsora ordenada del corazón se inicia y controla por las células nodales automáticas o marcapaso y su tejido de conducción. Estas estructuras están compuestas de células musculares cardíacas especializadas, adaptadas para excitar y conducir en lugar de contraerse.³

El tejido nodal está compuesto de pequeñas células alargadas que contienen relativamente pocas miofibrillas. Está localizado en dos regiones del corazón. Un nodo está en la pared de la aurícula derecha, cerca de la unión con la vena cava superior, (el nodo SA o sinoauricular); el otro cerca del tabique interventricular en la unión de las aurículas y los ventrículos, (el nodo AV o auriculoventricular, llamado también nodo de Tawara).³

Fibras especializadas de conducción rápida irradian desde el nodo SA en tres vías principales, los haces anterior, medio e internodal posterior. Las fibras de los tres haces forman anastomosis con fibras auriculares contráctiles, y también pasan directamente al nodo AV. Una rama del haz anterior, (haz de Bachmann), pasa a las fibras contráctiles de la aurícula izquierda, y forman anastomosis con ellas. El haz medio y la rama restante del haz anterior siguen el camino más corto hacia abajo por el tabique interauricular hasta el nodo AV. Fibras conductoras similares, (fibras de Purkinje), parten del nodo AV, formando un haz bien definido denominado haz de His o haz AV. El haz de His atraviesa la lámina fibrotendinosa entre aurículas y ventrículos; luego se divide en ramas izquierda y derecha que siguen hacia abajo a cada lado del tabique intraventricular por debajo del endocardio hasta llegar al vértice del corazón. Las ramas del haz se dispersan en ramas menores, (las redes de Purkinje), se arborizan en las porciones endocárdicas de las cavidades ventriculares correspondientes y luego comunican con la masa muscular.⁹

La fig 1-3 muestra las posiciones del tejido nodal y el tejido de conducción del corazón. La vía normal de conducción que desencadena el tejido cardíaco es la siguiente:

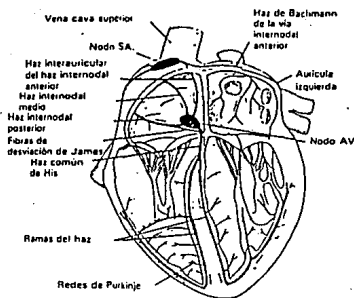


Fig. 1-3 Sistema nodal y de conducción del corazón

El nodo SA brinda al corazón su propio ritmo intrínseco que, si bien puede modificarse por actividad nerviosa, no depende de ella. Las diversas partes del sistema de conducción la efectúan con velocidades diferentes y tienen periodos refractarios que no son iguales. La disposición de las ramas del sistema de conducción establece la secuencia de activación de las diversas partes del miocardio. La velocidad de conducción a través de las aurículas es difícil de determinar, dado que las fibras de conducción toman diferentes caminos. Esta conducción empieza lentamente en el nodo SA y sigue lenta en las fibras perinodales vecinas, (aproximadamente 0.03 m/s); luego se acelera hasta 0.5 a 1.0 m/s, cuando el potencial de acción pasa a través de los haces

internodales a las paredes de las aurículas, pero de nuevo se hace más lento hasta aproximadamente 0.05 m/s al acercarse al nodo AV.³

El tiempo de conducción del nodo SA al nodo AV es de aproximadamente 50-60 ms. Dentro del nodo AV la conducción se hace lenta hasta de 0.01 m/s al atravesar la parte media del mismo. La lentitud de conducción a través de la parte media del nodo AV significa que el potencial de acción no lo abandona hasta transcurridos 150 ms después de desencadenado inicialmente por el nodo SA. El retraso antes de comenzar la actividad ventricular da tiempo para un vaciamiento más completo de las aurículas hacia los ventrículos relajados y para que se cierren las válvulas AV. La velocidad de conducción aumenta hasta 1 - 1.5 m/s cuando el potencial de acción abandona el nodo AV y al llegar a las fibras de Purkinje alcanza valores de 3 - 4 m/s.³

En la parte final de las fibras de Purkinje, justo antes de unirse con el músculo, existe una última ramificación, llamada puerta terminal.³

La puerta es una región de la fibra conductora donde la duración del potencial de acción y la del período refractario son mayores que en las regiones a cada lado.³ Dados sus períodos refractarios más prolongados las puertas eliminan potenciales de acción prematuros y anormales que pudieran iniciarse a cada lado.

Normalmente los periodos refractarios de todas las puertas son prácticamente iguales. Si se produce una desigualdad de magnitud suficiente, resulta más fácil la aparición de arritmias por un proceso de reingreso. (fig 1-6):⁹

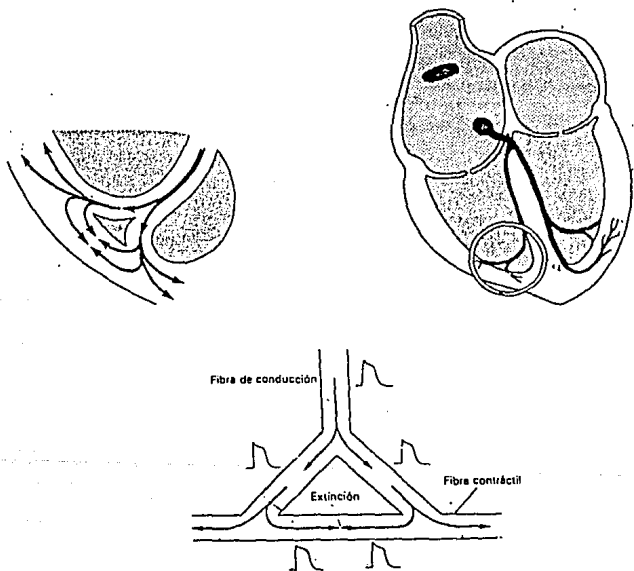


Fig. 1-6 Representaciones esquemáticas de una puerta terminal

EL ELECTROCARDIOGRAMA

El paso del potencial de acción a través del tejido cardiaco puede descubrirse como un cambio físico en la diferencia de potencial entre un par de electrodos externos colocados en diferentes lugares en la superficie del corazón, de la misma manera que el potencial de acción viaja a lo largo de las fibras nerviosas o se difunde por el músculo esquelético. El cuerpo se comporta como un conductor de volumen, es decir, un conductor en el cual la corriente eléctrica puede fluir en cualquier dirección. En consecuencia, el resultante de las diferencias de potencial en la superficie del corazón puede registrarse en la superficie del cuerpo mediante electrodos colocados sobre la piel, como comprobó por primera vez Einthoven en 1906. La resistencia eléctrica de la piel seca es elevada (cerca de 1 megaohm o más), pero puede disminuirse en las áreas donde se colocan los electrodos frotando con una jalea que contiene un electrolito y polvo de piedra pómez como abrasivo. Los cambios en la diferencia del potencial se observan en un osciloscopio de rayos catódicos o sobre un papel oscilógrafo que se desplaza proporcionando el registro denominado electrocardiograma o ECG.³

Las características principales del ECG durante un ciclo cardiaco normal se indican en la fig 1-7. Las magnitudes relativas de los diversos componentes del ECG reflejan las masas de las diversas partes del corazón de donde provienen. La onda P resulta del paso

del potencial de acción a través del músculo auricular y es relativamente pequeña en comparación con el complejo QRS, el resultante del potencial de acción a través del músculo ventricular. Las células marcapaso y el tejido de conducción no producen deflexiones en el ECG convencional. La onda T resulta de la repolarización ventricular; la repolarización auricular normalmente no resulta visible porque tiene lugar durante el complejo QRS y por lo tanto queda enmascarada.

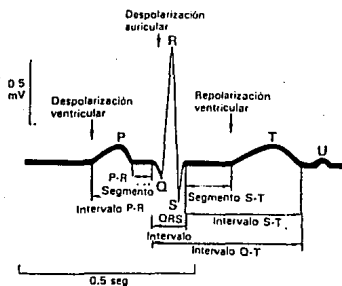


Fig. 1-7 Esquema de un ECG indicando los diversos términos y símbolos utilizados para describir sus componentes.

La fig 1-8 señala la evolución cronológica y la forma del ECG para los potenciales de acción registrados intracelularmente. También queda indicada la cronología de otros acontecimientos eléctricos durante el ciclo cardiaco, pero sólo la suma de los potenciales de acción auricular y ventricular es suficientemente elevada para contribuir a la forma ondulatoria del ECG.

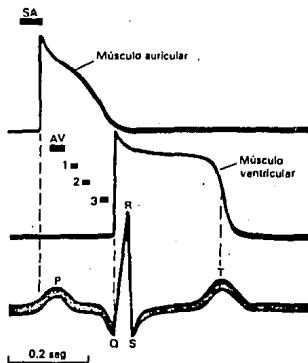


Fig. 1-8 Cronología del ECG relacionada con los acontecimientos eléctricos que tienen lugar durante el ciclo cardiaco. Solo se indican los potenciales de acción registrados intracelularmente en aurícula y ventrículo, pues sólo ellos, sumados, tienen intensidad suficiente para contribuir a la forma de la onda del ECG. Las barras horizontales indican la cronología de las desviaciones de otros potenciales de acción en el ciclo; así: SA=nodo SA, AV=nodo AV, 1=haz de His, 2=ramas del haz, 3=red de Purkinje.

CAPITULO II

MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS Y DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS

MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS CARDIACAS

Una arritmia es una anomalía en la frecuencia, regularidad o el sitio de origen del impulso cardíaco, o un disturbio en la conducción, que produce una alteración en la secuencia normal de activación de las aurículas, y los ventrículos².

Las arritmias pueden ser exacerbadas o precipitadas por numerosos factores: isquemia, hipoxia, acidosis o alcalosis, desequilibrios electrolíticos, exposición excesiva a catecolaminas, influencias del sistema autónomo, intoxicación medicamentosa, (por ejemplo con digitálicos), acortamiento excesivo de las fibras cardíacas y la presencia de cicatrices o de enfermedades tisulares.¹ Sin embargo, todas las arritmias resultan de:

- 1) alteraciones en la formación del impulso,
- 2) alteraciones en la conducción del impulso, o
- 3) ambas

Dado que no es el objetivo de esta tesis, el profundizar en el estudio de las arritmias cardíacas no se describirán estas en detalle, en cambio, se explicarán los mecanismos básicos que dan lugar a las arritmias y que son la base para un entendimiento de estas y de los mecanismos de acción de los fármacos antiarrítmicos.

MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS Y DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS

El ritmo cardiaco normal está gobernado por el ritmo de descarga del marcapaso sinoauricular, por que este es más rápido que el de otros marcapasos potenciales. El ritmo inherente del nodo SA es de 70-80/min. Los ritmos de descarga de otros marcapasos potenciales son los siguientes: nodo AV \approx 60/min; haz de His \approx 50/min; red de Purkinje 30-40/min.³

La supresión del marcapaso SA, o la interrupción de la conducción de impulsos del mismo, pueden permitir que uno de los marcapasos secundarios que se han mencionado, descargue rítmicamente y, por lo tanto, domine el ritmo de una parte o de todo el corazón. Alternativamente, un aumento de excitabilidad de cualquier parte del sistema de conducción puede hacer que descargue con mayor frecuencia que la del nodo SA, y por lo tanto, se transforme en un marcapaso dominante (marcapaso ectópico o foco ectópico).³

El ritmo cardiaco normal, depende de que los potenciales de acción iniciados en el nodo SA se multiplican por la ramificación de fibras de conducción y contráctiles, y son conducidos simultáneamente en secuencia ordenada a través de las paredes de las cavidades; después de un solo paso, los potenciales de acción que han viajado, por distintas vías, chocan y por lo tanto, se extinguen mutuamente.

La extinción por colisión es un determinante importante del ritmo cardiaco; si no existiera, la actividad continua del corazón podría oscilar a través de todo el órgano.

El potencial de acción en el haz de His y en la red de Purkinje normalmente viaja con velocidades entre 0.5 y 4 m/s admitiendo un periodo refractario de 0.3 seg para las fibras contráctiles. Un potencial de acción en las fibras de conducción, después de excitar las fibras contráctiles tendría que oscilar alrededor de una vía en forma de circuito de 150 mm a 1.2 m de longitud, para poder volver a excitar las mismas fibras contráctiles al final de su periodo refractario. Dada la gran distancia necesaria, no es probable que tales vías existan en un estado excitable.³

Una disminución en la velocidad de conducción reduce la distancia que tiene que atravesar un potencial de acción oscilante, para dar tiempo a que termine el periodo refractario de las fibras ya excitadas, aumentando con ello la posibilidad de que estas sean excitadas de nuevo.

Por ejemplo, si la conducción en una región isquémica fuera lenta, supongamos de 50 mm/s entonces el potencial de acción sólo necesitaría viajar 15 mm durante el periodo refractario (aproximadamente 0.3 seg), para poder estar en posibilidad de excitar a las mismas fibras contráctiles, por lo tanto, fácilmente podrían establecerse vías de oscilación.

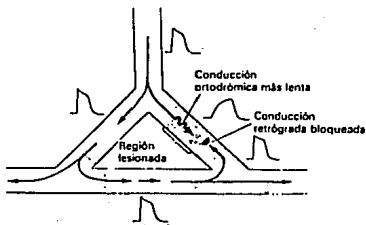
ARRITMIAS POR REINGRESO

La disminución de rapidez de conducción en la dirección normal de propagación del potencial de acción, frecuentemente suprime la conducción retrógrada; por lo tanto, la región lesionada actúa como una válvula que permite la conducción unidireccional, de manera que no tiene lugar la extinción por colisión. Al mismo tiempo la lentitud impone un retraso que permite la nueva excitación de parte del sistema de conducción que normalmente habría estado en fase refractaria.³ Este fenómeno se denomina reingreso (fig. 2-1). Algunas excitaciones que reingresan originan un solo latido anormal extra, estrechamente acoplado con cada latido precedente del marcapaso. Otras excitaciones originan también ciclos de despolarización que se van autopropagando, el denominado movimiento circular.³ La aparición de uno u otro depende de que la vía de conducción del latido sinusal próximo resulte extinguida por la excitación que reingresa.³

Fig. 2-1 Posible explicación del reingreso y el movimiento circular resultante. El esquema representa dos ramas de fibras conductoras unidas a una cadena de fibras contractiles formando un asa; se indican las formas de los potenciales en diversos puntos.

Los esquemas (a) y (b) representan la secuencia de acontecimientos en una situación en la cual la lesión de una rama hace que actúe como válvula que impide la conducción antidrómica, pero permite la conducción ortodrómica más lenta, como ocurre especialmente en presencia de adrenalina o noradrenalina; por lo tanto, no se produce la extinción por colisión dentro del asa.

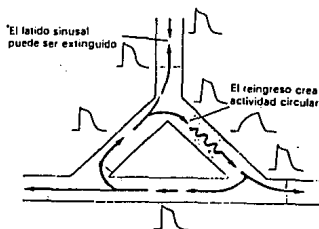
En (a) las fibras contráctiles son excitadas



MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS Y DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS

por el impulso que proviene de una rama mientras el potencial de acción pasa lentamente a través de la región lesionada de la otra rama.

En (b) el potencial de acción más lento recupera su velocidad de conducción después de atravesar la región lesionada, y vuelve a excitar las fibras contráctiles, que ahora ya han terminado su periodo refractario; el impulso pasa desde ellas a través de las fibras de conducción en la otra rama y reingresa en la región lesionada, donde la conducción es más lenta. Esta secuencia se perpetúa originando un movimiento circular.



Otro tipo de arritmia de reingreso puede provenir de la respuesta a un potencial de acción prematuro desde el nodo SA, o de un marcapaso ectópico a consecuencia de un desequilibrio en el estado refractario a nivel de una de las puertas en la red de Purkinje.³

Normalmente la función de las puertas de conducción relativamente lenta estriba en extinguir los potenciales de acción prematuros, antes que puedan excitar las fibras contráctiles (fig. 2-2).

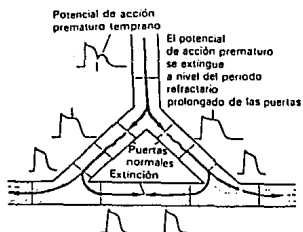


Fig. 2-2 El esquema ilustra la función normal de las puertas, que consiste en extinguir potenciales de acción prematuros antes de que alcancen las fibras contráctiles.

Si se presentara un potencial de acción un poco mas tarde, pero siendo todavía prematuro, el potencial pasaria las puertas para extinguirse en las fibras contráctiles (fig. 2-3). Y sólo se produciría una contracción extra.

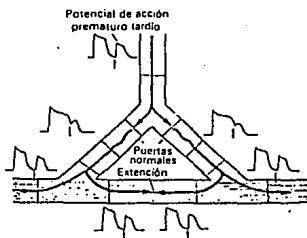


Fig. 2-3 Al presentarse un potencial de acción prematuro, pero demasiado tardío para ser extinguido en las puertas de conducción, los potenciales atraviesan la puertas a ritmos similares, produciendo una contracción extra en el miocardio, para luego extinguirse sin producir movimiento circular.

Sin embargo, si la conducción a través de una puerta en un asa fuera anormalmente lenta, de manera que su periodo refractario se prolongara, podría bloquear la conducción ortodrómica de un potencial de acción prematuro que sería capaz de reingresar en la red de conducción (fig. 2-4). Esto tendría por consecuencia la multiplicación y oscilación del potencial de acción prematuro.

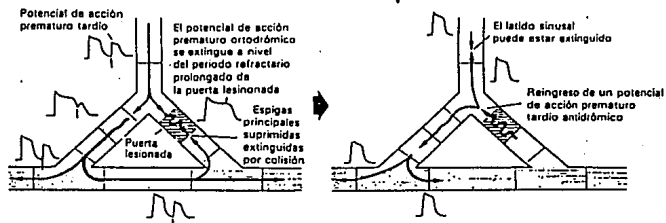


Fig. 2-4 Al presentarse un potencial de acción prematuro tardío, cuando una de las ramas de la puerta esta lesionada, el potencial de acción prematuro es extinguido en la rama lesionada pero no en la normal. Al atravesar el potencial de acción la rama lesionada, se extingue con el potencial de acción sinusal proveniente de el asa normal, dejando al potencial de acción prematuro en posibilidad de reingresar en dirección antidrómica a través del asa lesionada originando un movimiento circular y por lo tanto una arritmia por reingreso.

EL SINDROME DE WOLFF PARKINSON WHITE W P W

El síndrome de Wolff-Parkinson-White es un ejemplo de otro tipo de arritmia por reingreso, fue descrito por primera vez en 1930 por los cardiólogos Wolff-Parkinson y White. Este síndrome se presenta en personas jóvenes por lo demás sanas, con un intervalo P-R anormalmente corto y un complejo QRS deformado, que tienen tendencia a sufrir crisis ocasionales de taquicardia paroxística.³ La frecuencia de la anomalía básica del ECG se ha estimado diversamente entre 0.1 y 3.1 por 1000, pero resulta difícil de determinar con precisión ya que aproximadamente el 20% de los individuos, no tienen tendencia a las arritmias, y quizá no se

MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS Y DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS

hayan dado cuenta de su situación; además la anomalía en el ECG puede ser intermitente y no es seguro que exista en el momento de tomarse el registro. El 70% aproximadamente de los adultos con síndrome WPW no muestran ninguna otra señal de enfermedad cardíaca, y en ellos está comprobado que el proceso es familiar y se transmite como carácter dominante autosómico.³

Hay muchos datos que indican que el síndrome WPW depende de la presencia de fibras conductoras que rodean la unión AV, provocando que la excitación se transfiera rápidamente de las aurículas a los ventrículos, provocando un intervalo P-R demasiado corto. Además la excitación es conducida por la vía normal, lo cual brinda la posibilidad de un movimiento circular de la excitación entre aurículas y ventrículos al encontrarse unidos por dos fibras conductoras en vez de una.³

En ocasiones la desviación de las fibras conductoras se halla en la parte externa del corazón, formando el denominado haz de Kent, y en estos casos el síndrome puede suprimirse por sección quirúrgica de dicho haz.³

Los pacientes suelen buscar ayuda médica porque sufren una arritmia, casi siempre una taquicardia auricular (80%), pero en ocasiones fibrilación auricular (16%) o aleteo auricular (4%).³

Esta comprobado que la arritmia se desencadena cuando la excitación alcanza el ventriculo por la unión AV normal y luego es transferida nuevamente a las aurículas por conducción retrógrada en la vía de desviación. El reingreso da origen entonces a un gran movimiento circular entre aurículas y ventrículos. Si la conducción retrógrada llega a alcanzar las aurículas durante la fase excitable, puede producirse fibrilación o aleteo auriculares.³

ARRITMIAS POR PERIODO REFRACTARIO BREVE

Una disminución en la duración del período refractario pudiera originar una arritmia, o empeorarla, al perturbar la extinción del potencial de acción de lo cual depende el ritmo normal. Ejemplos de productos o situaciones que disminuyen el periodo refractario, incluyen acetilcolina actuando sobre las aurículas, falta de glucosa, hipoxia y anestésicos halogenados.³

CLASIFICACION DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS

Los fármacos antiarrítmicos se han clasificado de acuerdo con el patrón de efectos electrofisiológicos que producen y/o sus supuestos mecanismos de acción. Sin embargo el hecho de que un mismo fármaco presente propiedades electrofisiológicas correspondientes a diferentes grupos, y a que miembros del mismo grupo presentan diferencias significativas en la clínica, ha provocado que existan distintas clasificaciones en la literatura. La clasificación que se presenta proviene de la recopilación de la información presentada por Goodman² y Bouman.⁹

CLASIFICACION DE FARMACOS ANTIARRITMICOS

CLASE	ACCION	EJEMPLOS DE FARMACOS	CLASE ANTIARRITMICA ADICIONAL	OTRA ACTIVIDAD TERAPEUTICA
I	ESTABILIZANTES DE MEMBRANA			
IA	Moderada depresion en fase 0 y conduccion lenta (2+), prolongan la repolarizacion.	Quinidina Procainamida Disopirrida	--- --- ---	--- --- ---
IB	Minima depresion en fase 0 y conduccion lenta (0 a 1+), acortan la repolarizacion.	Lidocaina Fenitoina Tocainida Mexiletina	--- --- --- ---	Anestesia local Anticonvulsiva --- ---
IC	Marcada depresion en fase 0 y conduccion lenta (4+); poco efecto sobre la repolarizacion	Encainida Loracainida Flecainida	--- --- ---	--- --- ---
OTROS		Ajmalina y derivados Metilidocaina Antazolina Aprindina Dilantina Imipramina Perhexilina Prenilamina	--- --- --- --- --- --- --- ---	--- --- --- --- --- --- --- ---

CLASIFICACION DE FARMACOS ANTIARRITMICOS

CLASE	ACCION	EJEMPLOS DE FARMACOS	CLASE ANTIARRITMICA ADICIONAL	OTRA ACTIVIDAD TERAPEUTICA
II	INHIBEN INFLUENCIAS ADRENERGICAS SOBRE EL CORAZON	Propranolol Acebutalol Atenolol Metoprolol Sotalol	--- --- --- --- IV	Usos generales de los β -bloqueadores ejemplo antihipertensivos
III	FARMACOS QUE RETRASAN LA REPOLARIZACION Y PROLONGAN EL POTENCIAL DE ACCION CARDIACO	Amiodarona Oxifedrina Bretilio	I y II II	Antianginoso Antianginoso (Ag. parcial de β -receptores) Antihipertensivo en desuso
IV	INHIBEN EL TRANSPORTE DE CALCIO	Verapamil Diltiazem	--- ---	Antianginoso vasodilatador ?
V	PROLONGAN EL PERIODO REFRACTARIO DEL NODO AV	Digoxina Digitoxina Lantanosido C	--- --- ---	Estimulantes del miocardio en la insuficiencia cardiaca congestiva
VI	AUMENTAN EL TONO VAGAL	Fenilefrina Metoxamina Edrofonio	--- --- ---	Agentes presores (agonistas de α receptores) Anticolinesterasa de accion breve;

MECANISMOS DE ACCIÓN PARA LAS DISTINTAS CLASES DE FÁRMACOS ANTIARRITMICOS

CLASE I

Los fármacos pertenecientes a esta clase actúan estabilizando la membrana, modificando la conductancia de la membrana para los cationes, particularmente del Na^+ y K^+ , durante diferentes fases del potencial de acción cardíaco.² Es útil subclassificar estos fármacos, en términos de su capacidad relativa para deprimir la V_{max} (por bloqueo de los canales rápidos de sodio) y hacer mas lenta la repolarización de membrana.² (fig. 2-6)

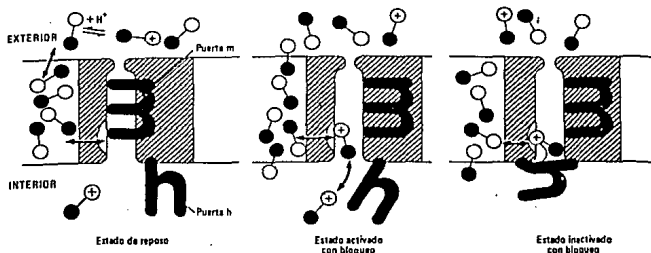


Fig. 2-6 Interacción de los medicamentos antiarrítmicos con el conducto cardíaco del sodio. El diagrama reproduce el modelo esquemático del conducto mostrado en la fig. 13-2. Las moléculas de un anestésico local antiarrítmico en solución en el líquido extracelular se clasifican en dos categorías: sin modificar (solubles en lípidos) y con carga positiva (menos solubles en lípidos) de acuerdo al pH y a sus pK_a . Aunque la membrana lipídica disuelve una gran cantidad de medicamentos sin modificar, el medicamento no puede unirse fácilmente al sitio receptor cuando el conducto está en reposo. La constante de disociación es muy grande. Sin embargo, cuando el conducto está abierto (en medio, puerta m retirada de su lugar), las moléculas de medicamento pueden alcanzar el sitio receptor desde el lado de la membrana lipídica o desde el espacio intracelular. En este momento la constante de disociación es relativamente pequeña (para la mayor parte de los medicamentos antiarrítmicos). Cuando el medicamento se une al receptor, los iones de sodio no pueden pasar a través del conducto. Cuando está inactivado (derecha, puerta h cerrada), las moléculas medicamentosas pueden alcanzar todavía el sitio receptor, pero sólo desde la fase lipídica de la membrana; el acceso desde el compartimiento intracelular está bloqueado. Puede haber cierta interacción entre la puerta h y el medicamento que está unido al receptor. La constante de disociación para esta combinación medicamento-receptor en el conducto inactivado puede ser extremadamente pequeña para ciertos medicamentos, por ejemplo, amiodarona.

CLASE II

Los fármacos de esta clase inhiben influencias adrenérgicas sobre el corazón.¹ De esta manera, modifican diversos parámetros electrofisiológicos en forma indirecta.² La sensibilidad a las catecolaminas se incrementa en diversos estados patológicos acompañados de arritmia, como infarto al miocardio y dosis excesivas de glicósidos cardiacos.³ Al mismo tiempo la situación de tensión inherente a estos procesos se acompaña de un aumento de la descarga simpática. Las catecolaminas pueden permitir que potenciales lentos iniciados en el miocardio lesionado y despolarizado se propaguen y originen ritmo de reingreso. Por lo tanto, es evidente que la supresión de influencias simpáticas ha de tener efecto benéfico sobre las arritmias que han sido empeoradas o desencadenadas por noradrenalina.³

CLASE III

El tipo de fármacos reunidos dentro de este grupo, comparten la propiedad de prolongar el periodo refractario como principal mecanismo de acción antiarrítmica, sin embargo, estos pocos fármacos también actúan mediante otros mecanismos. Un ejemplo de los fármacos pertenecientes a este grupo la amiodarona, tiene la propiedad de prolongar la duración de los potenciales de acción y de los periodos refractarios tanto en aurículas como en ventrículos después de su administración diaria durante semanas.³ En estas condiciones, el potencial de membrana en reposo, la

amplitud del potencial de acción, y el ritmo de elevación de la fase 0 están poco o nada afectados.³

Además de su acción antiarrítmica tardía, experimentos en animales han demostrado una acción aguda de la amiodarona contra las arritmias producidas por glicósidos cardíacos, arritmias ventriculares nacidas de ligadura coronaria, y arritmias auriculares producidas por acetilcolina. Estas acciones agudas se han atribuido principalmente a una acción estabilizante de membrana, y a la capacidad del fármaco de antagonizar los efectos de la estimulación simpática y de las catecolaminas; es decir, con actividades de clase I y II.³

CLASE IV

La característica principal de los fármacos reunidos en este grupo es que inhiben el transporte de calcio a través de la membrana de la célula miocárdica.³ Como ejemplo de este tipo de fármacos, tenemos al Verapamil, fármaco sintetizado inicialmente para tratar la angina de pecho. Sin embargo, el verapamil ha demostrado ser eficaz para tratar arritmias cardíacas, especialmente las de origen supraventricular, de tal forma, que actualmente se utiliza más frecuentemente como antiarrítmico que para combatir la angina de pecho.³ Este fármaco impide el transporte de Ca^{2+} a través de la membrana de la célula miocárdica y, en dosis suficientes, suprime el componente lento del potencial de acción.³ Como la

conducción AV depende principalmente de potenciales lentos dependientes de calcio, este fármaco está contraindicado en pacientes con bloqueo AV.³ También está contraindicado en procesos en los cuales está disminuida la contractilidad del miocardio, como la insuficiencia cardiaca, el infarto reciente o el choque cardíaco.³ Así pues, su empleo requiere el diagnóstico cuidadoso del tipo de arritmia y un control preciso de la dosificación.³

CLASE V

Los miembros de este grupo están representados por los glicósidos cardíacos. Aun cuando el empleo terapéutico más importante de este grupo de productos es para aumentar la contractilidad del miocardio en la insuficiencia cardiaca congestiva, los glicósidos cardíacos también tienen importante papel en el tratamiento de fibrilación auricular, aleteo auricular y, hasta cierto punto, en la taquicardia paroxística supraventricular.³ Hecho paradójico, ya que las dosis excesivas de glicósidos suelen causar taquicardia supraventricular paroxística con bloqueo AV parcial, aparte de otras arritmias; por lo tanto, es importante tener la seguridad de que el proceso no ha sido causado por un glicósido cardíaco antes de utilizar uno de estos fármacos en un intento de controlar la arritmia.³

La prolongación del periodo refractario del nodo AV por parte de los glicósidos cardíacos es el principal efecto benéfico para tratar la fibrilación auricular. Este efecto depende, en parte de

la acción directa sobre el nodo AV, y en parte de reflejos desencadenados por el aumento de presión arterial que sigue a la mejoría del gasto cardiaco, con lo cual se aumenta la acción del vago y disminuye la del simpático.³ La prolongación del periodo refractario del nodo AV disminuye el número de impulsos que llegan a los ventrículos; por lo tanto disminuye la frecuencia ventricular.³

El fin terapéutico inmediato para tratar la fibrilación auricular es disminuir la frecuencia ventricular, y por lo tanto restablecer la eficacia como bomba.³ Los glicósidos cardiacos actuan así, pero no suprimen la fibrilación. La quinidina o la procainamida son los más empleados, junto con glicósidos, para tratar la fibrilación auricular; disminuyen la frecuencia auricular prolongando, en las aurículas el periodo refractario. Si quinidina o procainamida se utilizan solas disminuyen la eficacia como bomba.

Los glicósidos cardiacos son los fármacos más eficaces para tratar el aleteo auricular. El aumento de actividad vagal que producen puede convertir el aleteo en fibrilación al acortar el periodo refractario de las aurículas. Esto se considera ventajoso en la clínica pues la frecuencia ventricular es más fácil de controlar durante la fibrilación auricular que durante el aleteo auricular. Además, según ya, se describió, el periodo refractario del nodo AV se prolonga.

Cuando se suprime el glicósido, muchas veces se restablece el ritmo sinusal normal. De lo contrario puede emplearse quinidina o procainamida junto con el glicósido cardiaco, en la forma antes señalada.

Las taquicardias paroxísticas supraventriculares suelen aliviarse con técnicas que aumentan la actividad vagal y el empleo de un glicósido cardiaco es uno de ellos.³

CLASE VI

La principal característica de los miembros de este grupo es que suprimen las crisis menos graves de las taquicardias paroxísticas supraventriculares simulando o provocando por vía refleja la actividad vagal. Por lo tanto, disminuyen la frecuencia de formación de impulsos en marcapasos auriculares y deprimen la conducción AV.³

La metacolina se empleó en un tiempo para simular la acción del vago sobre el corazón, pero tiene muchos efectos secundarios y ya casi no se utiliza. Los fármacos anticolinesterasa de acción breve, como el endrofonio son mejor tolerados.³

Los fármacos que se han empleado para provocar actividad vagal refleja a nivel cardiaco por su acción presora, incluyen agonistas de α -receptores con poca o ninguna actividad agonista sobre

MECANISMOS DE LAS ARRITMIAS Y DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS

β -receptores, como fenilefrina y metoxamida. Fármacos de este tipo también estimulan α -receptores antes de la unión a nivel de terminaciones nerviosas simpáticas, con lo cual reducen la liberación de noradrenalina.³

USOS Y EFECTOS INDESEABLES DE ALGUNOS FARMACOS ANTIARRITMICOS

De manera complementaria a la información descrita anteriormente, se presenta el siguiente cuadro donde estan resumidos tanto los usos como los efectos indeseables o tóxicos de algunos fármacos antiarrítmicos comunes.³

USOS Y EFECTOS INDESEABLES DE ALGUNOS FARMACOS ANTIARRITMICOS

<i>Drugs</i>	<i>Vía de administración</i>	<i>Tipos de arritmias en el cual es eficaz</i>	<i>Efectos más comunes</i>	<i>Efectos adversos y otros</i>
Quinidina	Bucal o IV	Fibrilación auricular, extrasístoles ventriculares, taquicardias supraventriculares, síndromes preexcitados y disritmias inducidas por ellas. Efectivamente administrada junto con un glicósido cardíaco o un antagonista de adrenergicoceptor β en caso de fibrilación y síncope de aurículas.	De tipo atropínico, depresión del miocardio, taquidistancia	Cinchonismo (ver pág. 36-37), reacciones de hipersensibilidad, hipotensión, vómitos, diarreas, bloqueo AV, taquicardia ventricular, fibrilación ventricular y muerte súbita.
Procainamida	Bucal o IV (existe un preparado por vía local de liberación prolongada).	Campo para la quinidina, aunque algunos pacientes pueden responder mejor a un producto que al otro. Los mejores resultados se obtienen en disritmias ventriculares que no sean provocadas por un glicósido cardíaco.	Depresor miocárdico, bradilatador	Náuseas, vómitos, diarrea, fiebre, exantemas, agranulocitosis, trombocitopenia, leucopenia, neutropenia, eritrocitosis, eritropoiesis, hipotensión, efectos cardíacos similares a los de la quinidina.
Disopiramida	Bucal o IV	Son los preexcitados auriculares y ventriculares y disritmias provocadas por ellas, disritmias asociadas con el síndrome de Wolff-Parkinson-White, y disritmias desencadenadas por glicósidos cardíacos. No son eficaces en taquicardias supraventriculares.	De tipo atropínico (relativamente más potente que la quinidina), depresora del miocardio.	Efectos secundarios relativamente raras. Casi siempre incluyen síntomas de tipo atropínico: boca seca, visión borrosa y débil y distorsión para la visión. Suele producir bradicardia gastrointestinal y reacciones cutáneas. Se han señalado unos pocos casos de toxicidad del grupo cardíaco o caso de insuficiencia cardíaca.
Fencitolina (Difenina)	Bucal, IV o IM.	Particularmente útil en disritmias provocadas por un glicósido cardíaco. También es emplea en ritmos ectópicos ventriculares.	Anticoagulante	Ver cuadro 18-F (pág. 18.27) y pág. 18.32.
Lidocaina (lignocaina)	IV por inyección prolongada en ocasiones, IM.	Disritmias ventriculares, especialmente después de infarto miocárdico, pero menos potentes que hace un tiempo. No sirve en disritmias supraventriculares.	Anestésico local (pág. 16.20), depresor del miocardio, vasodilatador.	Menos hipotensión y depresión miocárdica que la procainamida. Son eficaces las convulsiones. Produce intensa activación venoclava durante el efecto miocárdico. Puede provocar paro de modo SA si se emplea con quinidina.
Meclizina	Bucal o IV	Disritmias ventriculares, especialmente después de infarto miocárdico; disritmias provocadas por glicósidos cardíacos.	Vasodilatadora, anti-convulsiva (bloquea la captación de GABA en el cerebro), inhibidor de MAO.	Náuseas, vómitos, somnolencia, mareo, temblor, visión borrosa, hipotensión, bradicardia leve, fibrilación auricular.
Amazofina	Bucal o IV	Disritmias supraventriculares. Debe administrarse junto con un glicósido cardíaco en caso de ataque o fibrilación de las aurículas.	De tipo atropínico anti-muscarínico, inhibidor de MAO.	Leves trastornos gastrointestinales, sedación, efectos leivos de tipo atropínico, agranulocitosis, trombocitopenia.
Propafenol y otros drogas bloqueadoras de adrenergicoceptor β	Bucal o IV	Taquicardias provocadas por ansiedad, disritmias inducidas con amoniacas que producen catecolaminas o por un glicósido cardíaco, taquicardias supraventriculares en las cuales el efecto depresor de AV sobre la transmisión controla la frecuencia ventricular, toda disritmia en la cual las catecolaminas son excitantes lo sea que puede ser beneficiosa en todos los dominios.	Ver cuadro 11-5, pág. 11.41.	Bradicardia, hipotensión, insuficiencia cardíaca, broncoconstricción, exantemas, trastornos intestinales, vómito, depresión. La cantidad de estas moléculas difiere según los drogas del grupo. Los efectos del propafenol sobre el ojo y la piel se describen en las páginas 29 y 32.3, respectivamente. Otros drogas de este clase no producen tales efectos.
Verapamil	Bucal o IV	Disritmias supraventriculares.	Vasodilatador, depresor del miocardio.	Náuseas, vómitos, vómito, bostezo, reacciones alérgicas.

CAPITULO III

FARMACOLOGIA DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

Tal como se presentó en el capítulo anterior, los fármacos antiarrítmicos poseen características farmacológicas muy diferentes entre si, por lo tanto, a los investigadores, médicos y farmaceuticos entre otros, les resulta sumamente útil contar con una descripción de las propiedades farmacológicas de cada compuesto, para los primeros, dicho conocimiento puede motivar la realización de otra investigación, o bien, puede formar parte del marco de referencia dentro del cual se situa su propia investigación. Para los segundos, les resulta indispensable conocer las propiedades específicas de cada compuesto antes de poder prescribir alguno de ellos, y tercero, a los farmaceuticos les resulta muy util conocer estas propiedades, ya que en base a ellas se puede diseñar un medicamento mas eficaz y seguro. En este capítulo se describirán las propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas, asi como algunos aspectos sobre la toxicología del clorhidrato de propafenona, en un intento de satisfacer la necesidad de conocimiento en esta área.

FARMACOCINETICA

Las propiedades farmacocinéticas del clorhidrato de propafenona han sido estudiadas por varios investigadores, sin embargo los datos presentados por cada autor difieren significativamente, la mayoría de los datos aquí presentados, provienen de una excelente recopilación, realizada por Siddoway,⁴ con motivo de su presentación en el simposio sobre propafenona organizado por *The American Journal of Cardiology* en noviembre de 1984. Para facilitar el acceso directo a la fuente primaria de información, se incluirán las referencias presentadas por Siddoway, además de las obtenidas de otras fuentes.

ABSORCION Y METABOLISMO PRESISTEMICO

Estudios realizados, utilizando propafenona marcada con deuterio, indican que mas del 95 % del fármaco se absorbe despues de una dosis oral.⁵ La maxima concentración en plasma se alcanza en el lapso de 2 a 3 horas despues de la administración oral.⁶⁻¹⁰

La biodisponibilidad sistémica de tabletas recubiertas de 300 mg usadas en los Estados Unidos es aproximadamente del 12 %, reflejando un extenso metabolismo presistémico. Hollman *et al*⁶ demostraron diferencias en la biodisponibilidad de varias formas de administración de propafenona. Como se muestra en la Tabla 3-1, la biodisponibilidad sistémica aumenta cuando la dosis se incrementa de 150 a 300 mg y el aumento es mayor cuando la dosis

de 300 mg es administrada en forma de solución oral, con respecto a cuando se administra en forma de tableta.

TABLA 3-1 PROPIEDADES FARMACOCINETICAS DE VARIAS FORMULACIONES DE CLORHIDRATO DE PROPAFENONA, ADMINISTRADAS EN UNA SOLA DOSIS, EN SUJETOS NORMALES.

FORMULACION	T _{1/2} (h)	t _{max}	C _{max} (ng/ml)	Biodisponibilidad Sistémica (%)
70 mg V. intravenosa	2.8	----	----	-----
300 mg sol. oral	4.4	1.0	331	23.5
300 mg tableta	4.6	2.5	150	12.1
150 mg tableta	2.5	2.7	26	4.8

* TODOS LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE ESTUDIOS EN 8 VOLUNTARIOS.

C_{max} = LA MÁXIMA CONCENTRACION EN PLASMA DE LA PROPAFENONA

T_{1/2} = TIEMPO DE VIDA MEDIA DE ELIMINACION

t_{max} = TIEMPO AL CUAL SE OBSERVO LA MÁXIMA CONCENTRACION EN PLASMA

(Holman et al, ref. 6)

La concentración máxima de propafenona en la circulación portal es incrementada con la dosis y el incremento es mayor cuando el fármaco es administrado en solución, porque el tiempo de absorción no se prolonga por el tiempo de disolución, como es en el caso de una tableta. Una interpretación de estos datos de biodisponibilidad indica que la propafenona es metabolizada en forma presistémica, (efecto de primer paso), por un sistema saturable. Este sistema saturable de metabolismo presistémico, puede provocar un rápido incremento en la concentración plasmática, cuando se incrementa la dosis por arriba del " punto de saturación ".

Hollman et al⁶ han notado un incremento no lineal en la concentración máxima de propafenona en plasma, después de dosis individuales en voluntarios sanos, encontrando que la concentración en plasma aumentó 6 veces cuando la dosis se incremento 3 veces en el intervalo de 150 a 450 mg (fig 3-1).

Este fenómeno, también fue observado por Connolly et al¹⁰, cuando midieron la concentración media de propafenona entre administraciones, durante un estudio de frecuencia de dosis en pacientes con arritmia. Notaron que un incremento de 3 veces en la dosis (de 300 a 900 mg/día) producía un aumento de 10 veces en la concentración media (fig. 3-1).

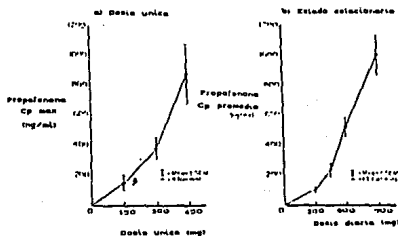


Fig. 3-1 Proporcionalidad de las dosis de propafenona, a) después de dosis individuales y b) en estado estacionario durante la administración crónica en pacientes.

Naccarella *et al*²⁸ determinaron las concentraciones plasmáticas de propafenona a diferentes tiempos después de la administración de una nueva dosis durante el tratamiento crónico, utilizando 2 niveles de dosis (450 y 900 mg/día), encontrando que la concentración plasmática promedio de la propafenona aumenta entre 2 y 3 veces cuando la dosis se incrementa al doble (fig. 3-2 y 3-3). Por otra parte, realizó un estudio en 4 pacientes y a 3 niveles de dosis, encontrando de nuevo que la relación de dosis vs concentración plasmática no era lineal.²⁹

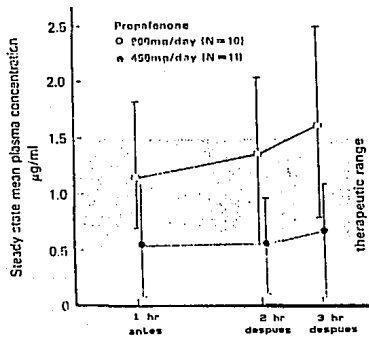


Fig. 3-2 Niveles plasmáticos de propafenona, medidos una hora antes y dos y tres horas después de una nueva dosis oral. En el grupo A (900 mg/día) y en el grupo B (450 mg/día).

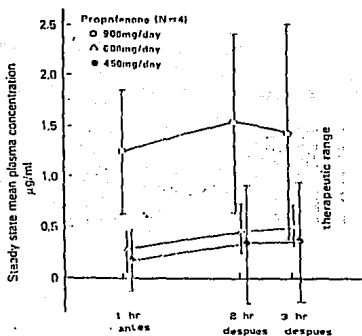


Fig. 3-3 Niveles plasmáticos de propafenona medidos, una hora antes y dos y tres horas después de una nueva administración oral, en 4 sujetos que recibieron dosis de 900, 600 y 450 mg/día

En resumen, la propafenona se metaboliza presistémicamente en forma extensa, por un sistema saturable, su biodisponibilidad es de 5 a 12 % para las tabletas de 300 mg usadas en los Estados Unidos y al aumentar la dosis se presenta un incremento no lineal en la concentración plasmática.

DISTRIBUCION

Después de la administración intravenosa de propafenona a voluntarios normales, la concentración en plasma obtenida refleja un volumen en el compartimento central de aproximadamente 0.7 a 1.1 lt/Kg.⁶⁻⁸ El tiempo de vida media de distribución del fármaco, desde el compartimento central es aproximadamente 4 minutos.⁶ El volumen de distribución en el equilibrio es aproximadamente 1.9 a 3 lt/Kg.⁶⁻⁸ Aproximadamente el 97 % de la propafenona se liga a proteínas. Al realizar una autopsia se encontró la propafenona en altas concentraciones en los pulmones, en estos la concentración resulto ser 10 veces mayor que en el músculo cardiaco o en el hígado y 20 veces mas alta en relación al músculo esquelético y riñón.⁹

ELIMINACION

Estudios de la cinética de eliminación de propafenona utilizando una sola dosis, indican que el tiempo de vida media es relativamente corto, con valores promedio de 4.6 y 3.6 h reportados por Hollmann *et al*⁶ y Keller *et al*⁷ respectivamente. Sin embargo, estudios de cinética de eliminación en estado constante, realizados en Estados Unidos, muestran tiempos de vida media largos, y una gran variabilidad entre los individuos, con un intervalo de 1.8 a 17.2 h reportado por Salerno *et al*¹¹ y 2.4 a 11.8 h reportado por Connolly *et al*.¹⁰ Siddoway por su parte,

informa que en una serie de 32 pacientes con arritmias ventriculares complejas,¹² el tiempo de vida media varió de 1.8 a 32.3 h (Promedio 7.7). (Estos datos se resumen en la tabla 3-2). También se informa sobre una gran variabilidad en la depuración, el intervalo fue de 192 a 4918 ml/min, con un promedio de 891.⁴

TABLA 3-2 VARIABILIDAD INTERINDIVIDUAL EN EL TIEMPO DE VIDA MEDIA DE ELIMINACION DE LA PROPAFENONA

AUTORES	T _{1/2} PROMEDIO (h)	Rango (h)	muestra
Estudios con una dosis oral			
Hollmann ⁶	4.6 (300mg)	2.3 - 9.5	8 voluntarios
Keller ⁷	3.6 (900 mg)	1.8 - 4.3	7 pacientes
Estudios durante el estado estacionario			
Connolly ¹⁰	8.0	2.4 - 11.8	13 pacientes
Salerno ¹¹	7.2	1.8 - 17.2	12 pacientes
Slidoway ¹²	7.7	1.8 - 32.3	32 pacientes

METABOLISMO

La propafenona es extensamente metabolizada, menos del 1 % de una dosis oral es excretada sin cambio en la orina.^{5,8} El fármaco sufre metabolismo oxidativo produciendo los metabolitos 5-hidroxi e hidroxi-metoxipropafenona (fig. 3-4).⁵ Se producen otros metabolitos pero en cantidades cuantitativamente poco importantes.⁵ En adición al metabolismo oxidativo, la propafenona y sus hidroximetabolitos y hidroxi-metoximetabolitos forman conjugados glucorónidos y sulfatos.⁵ Estos conjugados son la principal forma en que se recuperan la propafenona y sus metabolitos en las heces y en la orina.

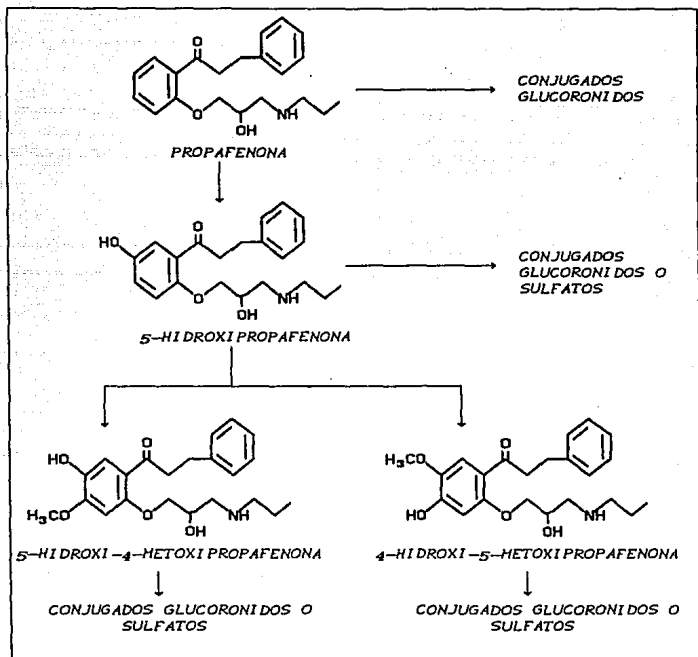


Fig. 3-4 METABOLISMO DE LA PROPAFENONA. Los principales metabolitos de la propafenona, 5-hidroxi propafenona y hidroximetoxipropafenona, son altamente conjugados con grupos glucorónidos y sulfatos, por medio del hidroxilo de la cadena.

La propafenona presenta una marcada similitud en la cadena, con el propanolol (fig. 3-5). El propanolol sufre una extensa glucoronidación presistémica en el carbón asimétrico de la cadena. En el hombre, este factor limita la biodisponibilidad.³ Esta glucoronidación es estereoespecífica en el perro;⁴ sin embargo la existencia de conjugación estereoespecífica en el hombre es controvertida. La propafenona, al igual que el propanolol es una mezcla racémica, que puede presentar metabolismo estereoespecífico. Aunque este aspecto no ha sido bien estudiado, esto puede ser de suma importancia en la búsqueda de un mejor entendimiento de los determinantes estereoespecíficos del metabolismo de fármacos⁴.

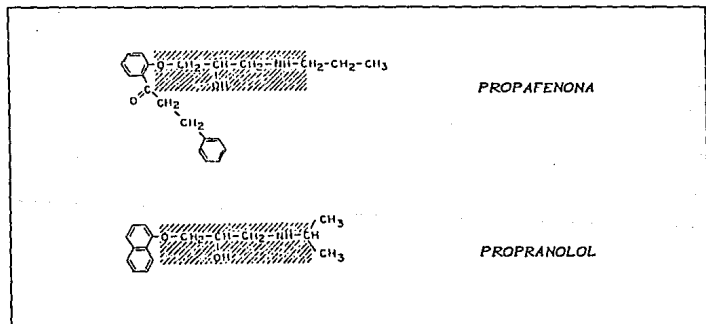


Fig. 3-5 Estructuras de la propafenona y el propanolol. La elevada similitud de las cadenas laterales es remarcada en las áreas sombreadas. Ambos fármacos están constituidos por una mezcla racémica de los d- y l-enantiómeros

FARMACODINAMIA

Las respuestas inducidas por la propafenona, pueden ser divididas en 2 grupos: uno relacionado a su efecto antiarrítmico, (reducción de focos ectópicos y alteraciones de los intervalos electrocardiográficos) y el otro relacionado a sus efectos adversos. Un entendimiento de la relación entre la concentración plasmática y la respuesta farmacológica, podría ayudar a incrementar su seguridad por separación de estos efectos.

MECANISMO DE ACCION

De acuerdo con los estudios hasta ahora realizados, la propafenona ejerce su efecto antiarrítmico principalmente por bloqueo de los canales rápidos de sodio, y es esta la razón por la que se ha clasificado dentro de la clase I de fármacos antiarrítmicos (capítulo 2).

BLOQUEO DEL CANAL RAPIDO DE SODIO

Kohlhardt²⁶ ha estudiado el bloqueo del canal rápido de sodio por la propafenona, y ha demostrado que este fármaco deprime la V_{max} , como consecuencia del bloqueo de los canales rápidos de sodio. (fig. 3-8). Así también ha demostrado que la disminución de la V_{max} , es dependiente de la concentración de propafenona²⁶

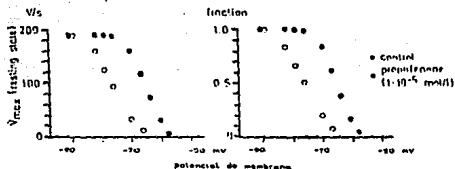


Fig. 3-6 IZQUIERDA, Dependencia de la V_{max} con respecto al potencial de acción, bajo condiciones control (círculos negros) y después del tratamiento con 1×10^{-5} M de propafenona (círculos claros). DERECHA, Valores normalizados de V_{max} graficados contra el potencial de membrana para obtener la curva virtual de h.

Como parte de los resultados obtenidos del estudio del bloqueo del canal rápido de sodio, inducido por la propafenona, Kohlhart encontró que así como otros fármacos antiaritmicos, la propafenona ejerce un bloqueo fásico (también llamado dependiente del uso) y un bloqueo tónico.²⁶

El bloqueo fásico depende de la afinidad entre el fármaco y el sitio receptor cuando el canal está abierto o inactivado, así como de la constante de velocidad de disociación del complejo fármaco-receptor. Mientras que el bloqueo tónico está determinado por la afinidad del fármaco con el receptor cuando el canal está en reposo. Sin embargo, el bloqueo fásico inducido por la

propafenona, difiere notablemente del inducido por otros fármacos antiarrítmicos tales como la lidocaína, ya que se presenta en forma significativa aun a frecuencias bajas (30/min). Esta diferencia se ha atribuido a que la velocidad de disociación del fármaco-receptor sea menor. Kohlhart hace énfasis en que esta característica de la propafenona puede ser de gran importancia en la clínica.²⁶

Como parte de su investigación, Kohlhart realizó varios experimentos a fin de determinar el efecto que ejercen diversos factores sobre la interacción entre el canal de sodio y la propafenona. En la fig 3-7 se muestra el efecto de la variación del potencial sobre la interacción de la propafenona con los canales de sodio. El aumento del potencial de -90 a -70 mV por elevación de la concentración de K^+ causa un incremento significativo en el bloqueo, produciendo un decremento de la V_{max} . Sin embargo, el bloqueo tónico y fásico exhiben diferentes sensibilidades al voltaje, el bloqueo tónico, se incrementa de 10 a 60% en respuesta a estos 20 mV de despolarización. En contraste, el bloqueo fásico se incrementa de 20 a solo el 40%. Aun mas, la forma de la curva que relaciona el potencial con el efecto sobre la V_{max} difieren considerablemente.²⁶

FARMACOLOGIA DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

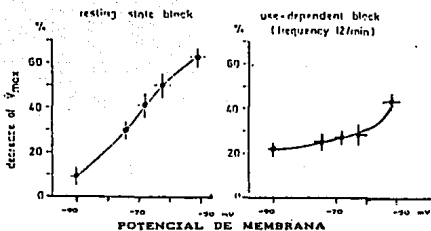


Fig. 3-7 Dependencia del bloqueo fásico (dr) y tónico (tzq) inducido por la propafenona con respecto al voltaje, en el miocardio ventricular de mamíferos. Concentración del fármaco 1×10^{-5} M. Cada punto es el promedio de 5 experimentos; las barras horizontales y verticales indican el error estándar de la media. (ref. 26)

En la fig 3-8 se muestra el efecto de la variación en la concentración de sodio extracelular sobre el bloqueo tónico y fásico del canal de sodio inducido por la propafenona, representado como el efecto sobre la disminución de la V_{max} .²⁶

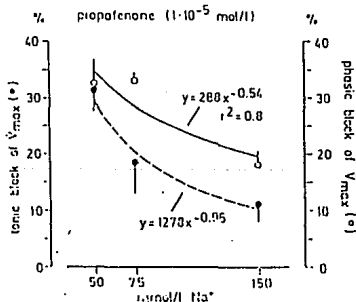


Fig. 3-8 Dependencia del bloqueo inducido por propafenona con respecto a la concentración extracelular de Na^+ . Bloqueo tónico (círculos oscuros) y bloqueo fásico (círculos claros). (ref. 26)

Kohlhart estudió también la relación concentración respuesta, encontrando que el bloqueo tónico y fásico sobre el canal rápido de sodio y la correspondiente disminución en la V_{max} difieren en sus relaciones concentración respuesta (Fig 3-9). Para producir una inhibición tónica detectable, se requieren concentraciones mucho mayores que las necesarias para la inhibición fásica²⁶.

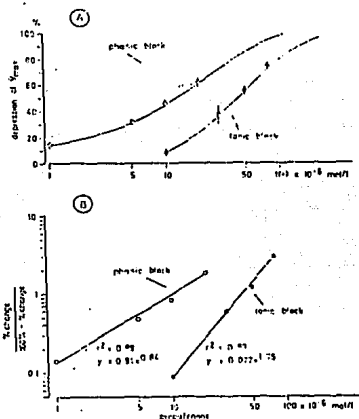


Fig. 3-9 (A) Relación concentración respuesta para el bloqueo tónico (círculos oscuros) y fásico (círculos claros) inducido por la propafenona. El bloqueo fásico fue estudiado a una frecuencia de 120/min. Cada punto es el valor promedio de 7 experimentos; las barras verticales indican el error estándar de la media. (B) Gráficas bilogarítmicas de la relación concentración respuesta (A) en las que se demuestra que la propafenona es más potente para producir el bloqueo fásico que el tónico, por el desplazamiento a la derecha de la línea del bloqueo tónico, así como una posible diferencia en el mecanismo de ambos mecanismos representado por la diferencia en la pendiente de las rectas.

Las diferencias encontradas en el comportamiento del bloqueo fásico y tónico, frente a diversos factores ha sido la causa de que investigadores tales como Khodorov,²⁷ señalen la posibilidad de que exista mas de un sitio receptor para la propafenona en el canal rápido de sodio, sin embargo Kohlhart²⁶ propone que todas las diferencias encontradas en el comportamiento del bloqueo fásico y tónico pueden ser explicados por la teoría del receptor modulado. Este modelo asume un solo sitio receptor, con una conformación dependiente del estado. La transición desde la configuración en reposo a activado e inactivado del canal puede producir diferencias en la afinidad al receptor.²⁶

BLOQUEO β -ADRENERGICO

Las similitudes estructurales entre la propafenona y el propranolol son claras, sin embargo, no ha quedado perfectamente establecido si la propafenona produce un bloqueo β -adrenérgico clinicamente significativo. En la base de la prueba de sensibilidad al isoproterenol, la propafenona parece tener 1/40 de la potencia β -bloqueadora respecto al propranolol.²¹ Si la concentración de propranolol que produce β -bloqueo es 20-100 ng/ml,^{18,19} se puede esperar efecto β -bloqueador a concentraciones mayores a 800 ng/ml. En adición a la prueba de sensibilidad al isoproterenol, se observó una reducción en la taquicardia inducida por ejercicio en una serie de pruebas después de la administración de una dosis

FARMACOLOGIA DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

oral.²⁴ Esta reducción en la velocidad del corazón puede ser interpretada como un bloqueo β -adrenérgico, y este efecto solo se presentó al tiempo en que se alcanzan las concentraciones pico.

SUPRESION DE ARRITMIAS

La relación concentración respuesta para la supresión de arritmias inducida por la propafenona esta sujeta a una gran variabilidad entre individuos.

Salerno *et al*¹¹ han reportado que la concentración mínima efectiva en sus pacientes, varia de 91 a 3,271 ng/ml. Similarmente, Connolly *et al*¹⁰ han notado que el intervalo de concentraciones efectivas va de 64 a 1,044 ng/ml. Siddoway *et al*⁴ encontraron que se requiere una alta concentración para la supresión del 90% de los focos ectópicos, (aproximadamente 800 ng/ml) el intervalo promedio de concentraciones efectivas varió de 143 a 1,992 ng/ml.

Prystowsky E.N. *et al*²⁹ consideran que la propafenona es razonablemente efectiva en el tratamiento de pacientes con taquicardia ventricular (VT), ya que produce un importante aumento en la longitud del ciclo cardiaco, durante la taquicardia ventricular.²⁹

Hodges M. *et al*¹⁵ al realizar un estudio doble ciego con placebo, encontraron que con una dosis de 300 mg de propafenona, cada 8 h, la disminución de las contracciones ventriculares prematuras (VPCs) fue del 80%, y que tambien fue efectiva en el tratamiento de la taquicardia ventricular no sostenida.¹⁵

FARMACOLOGIA DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

Podrid P.J. *et al*,²² evaluaron la eficacia antiarrítmica de la propafenona, utilizando un protocolo no invasivo en 60 pacientes con antecedentes de arritmias ventriculares refractarias a otros antiarrítmicos. Obteniendo que con dosis de mantenimiento entre 450 y 900 mg/día, el 60 % de los pacientes respondieron al fármaco, con una eliminación total de las taquicardias ventriculares, y una disminución mayor al 50 % en la frecuencia de las contracciones ventriculares prematuras. Por otra parte, basados en la prueba del ejercicio, se consideró que el 83 % de los pacientes respondió al tratamiento.²²

Durante la realización del estudio, se presentaron efectos adversos en el 33 % de los pacientes y finalmente de los 60 que iniciaron el estudio, 11 pacientes continuaron el tratamiento durante un promedio de 16 meses, con eficacia continua y libres de efectos adversos.²²

Coumel P. *et al*,²³ después de un estudio realizado en Europa, con 71 pacientes de 53 años de edad en promedio, llegaron a la conclusión de que la propafenona es un potente agente antiarrítmico indicado para el control de muchas arritmias auriculares y ventriculares severas, particularmente aquellas que dependen del sistema simpático (tablas 3-3 y 3-4).²³

TABLA 3-3 RESULTADOS EN EL TRATAMIENTO DE ARRITMIAS SUPRAVENTRICULARES, UTILIZANDO TERAPIA MONOFARMACO Y DE COMBINACION DE FARMACOS *

Diagnosis	n	Age (yr)/ Sex	Single Drug Therapy				Combined Drug Therapy				Duration of Pro Treatment
			Pro	MSt	β -Bl	Amlio	Amlio Pro	+ MSt	β -Bl Pro	+ MSt	
S Tach	1	54F	3	2	3	7 days
APB	2	57M	3	3	10 days
APB	3	74M	1	1	7 days
APB	4	46M	5	3	1 mo [†]
A Tach	5	74M	5	2	1	3	9 mo
A Tach	6	42M	4	2	3	4	9 mo
A Tach	7	56M	1	1	1	3	5 days
A Tach	8	20F	2	...	3	3	3 days
A Tach	9	40F	2	...	2	2	4 mo [†]
A Tach	10	38F	2	2	20 days
A Fib	11	40F	3	...	1	1	6 mo [†]
A Fib	12	45M	2	2	1	2	4	2	...	2	5 mo [†]
VAA	13	62M	3	4	1	1	5	16 mo [†]
VAA	14	56M	1	3	2	3	...	5	1 mo
VAA	15	57M	2	1	1	3	...	5	1 mo
VAA	16	37M	1	2	1	2	1 day
VAA	17	64M	1	2	1	2	...	4	4 days
VAA	18	56M	1	2	1	3	6 days
VAA	19	57M	1	1	1	2	...	2	3 mo
VAA	20	35M	1	1	...	1	4 days
VAA	21	57M	2	1	...	1	1 mo
AAA	22	36M	5	3	5 days
AAA	23	69F	1	1	3	5	4 days
AAA	24	87M	5	2	2	2	...	3	20 mo [†]
AAA	25	58F	4	1	3	3	5	...	26 mo [†]
AAA	26	66M	5	5	5	15 days
AAA	27	58F	3	1	3	5	4	...	11 mo [†]
AAA	28	60F	5	1	3	5	4	21 mo
AAA	29	36M	5	1	3	3	...	5	4 mo
UT	30	47F	3	1	2	4	20 mo
UT	31	33F	...	2	5	1	...	1	8 mo [†]
WPW	32	23F	5	...	2	5	1 mo [†]

* Los números del 1 al 5 se refieren al sistema de evaluación: sin efecto (1) efecto ligero (2), moderado (3), buen efecto (4), completo control de la arritmia (5).

† Tratamiento prolongado.

AAA= taquicardia auricular adrenérgica; A Fib= fibrilación auricular;

APB= marcapaso auricular prematuro; A Tach= taquicardia auricular;

S Tach= taquicardia sinusal; VAA= arritmia auricular dependiente del vago;

WPW= Síndrome de Wolff-Parkinson-White.

Amlio= amiodarona; β -Bl= β -bloqueadores; MSt= Estabilizadores de membrana;

Pro= propafenona;

TABLA 3-4 RESULTADOS EN EL TRATAMIENTO DE ARRITMIAS VENTRICULARES, UTILIZANDO TERAPIA MONOFARMACO Y DE COMBINACION DE FARMACOS.

Diagnosto	n	Age (yr) ^a Sex	Single Drug Therapy				Combined Drug Therapy				Duration of Pro Treatment
			Pro ^b	MSI	β -Bl	Amla	Amro	+ MSI	β -Bl	+ MSI	
Id Ben VPD	28	68M	5	5	15 days
Id Ben VPD	33	85F	4	4	7 days
Id Ben VPD	34	45M	5	4	1	5	7 days
Id Ben VPD	35	78M	4	3	21 mo*
Id Ben VPD	38	33F	5	3	2	15 mo*
Id Ben VT	37	50M	4	2	...	3	...	3	15 days
Id Ben VT	38	18F	4	2	2	4	...	2 mo
Id Ben VT	39	35F	4	3	2	5	4	11 mo
Id Ben VT	40	43M	4	3	3	5	5	8 mo
Id Ben VT	41	26M	4	3	3	5	5	23 mo*
Id Ben VT	42	23M	5	3	2	5	23 mo*
Id Ben VT	43	52F	4	2	2	3	...	4	...	3	14 days
Id Ben VT	44	43F	1	2	1	3	10 days
Cardiom VT	5	74M	5	3	1	3	9 mo
Cardiom VT	45	58M	4	3	...	5	4 days
Cardiom VT	48	57F	5	5	4 days
Cardiom VT	47	59M	3	1	1	4	3 mo
Cardiom VT	48	53F	5	1	1	4	3 mo
Cardiom VT	49	59F	...	1	...	1	1	1	...	1	3 mo
Cardiom VT	50	51M	4	3	2 mo*
ARVD VT	51	43M	5	1	2	2	3 mo*
MVP VT	52	60F	4	1	2	2	8 mo*
MVP VT	53	37M	4	1	1	3	5	3	10 mo*
MVP VT	54	62F	4	2	2	3	4	2	...	2	9 mo*
MVP VT	55	35F	3	2	3	4	4	2	27 mo*
MVP VT	56	27F	3	1	1	1	1 mo*
Id Sev VT	18	56M	3	2	1	3	...	4	8 days
Id Sev VT	57	74M	5	2	2	5	2	9 mo*
Id Sev VT	58	9F	4	2	2	4	3	12 mo*
Id Sev VT	59	68F	3	2	2	5	...	5	11 mo*
PMI VT	60	57M	2	1	...	5	8 days
PMI VT	61	69F	4	2	...	3	3	4	23 mo*
PMI VT	62	57M	5	3	3	4	2 mo*
PMI VT	63	61M	5	3	...	3	...	4	24 mo
PMI VT	64	64M	1	1	...	1	...	1	3 days
PMI VT	65	63M	...	1	...	1	5	2	4 mo*
PMI VT	68	86F	1	1	1	1 mo
PMI VT	67	54M	...	1	...	1	2	2	15 days
PMI VT	68	89F	1	3	1	7 mo
PMI VT	69	72M	1	1	1	1	15 days
T de p	70	72F	5	1	2 mo
T de p	71	52F	5	1	1 mo

LAS ABREVIATURAS DE LOS FARMACOS SON LAS MISMAS QUE EN LA TABLA 3-3

* Tratamiento prolongado

ARVD VT= Taquicardia ventricular por disfunción arritmogénica del ventrículo derecho.

Cardiom VT= taquicardia ventricular en cardiomiopatías;

Id Ben VPB= marcapaso benigno prematuro idiopático a nivel ventricular

Id Ben VT= taquicardia ventricular benigna de origen idiopático

Id Sev VT= taquicardia ventricular severa, inducida por ejercicio, de origen idiopático.

MVP VT= taquicardia ventricular en la vdtvula mitral.

PMI VT= taquicardia ventricular post infarto al miocardio.

FARMACOLOGIA DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

Naccarella F. *et al*²⁸ estudiaron la eficacia de la propafenona, en 21 pacientes con arritmias ventriculares refractarias a otros medicamentos antiarrítmicos. El estudio fue dividido en 2 grupos.

El grupo A incluyó 10 pacientes que presentaban contracciones ventriculares prematuras (VPCs) en forma crónica, 6 de ellos además con taquicardia ventricular (TV) no sostenida, y los otros 4 con taquicardia ventricular sostenida y recurrente; todos recibieron propafenona, 900 mg/día.

El grupo B incluyó 11 pacientes, todos con (VPCs) en forma crónica, 9 de los cuales presentaban VT no sostenida y 5 presentaban VT sostenida; todos recibieron propafenona, 450 mg/día. La eficacia del fármaco fue evaluada como una reducción en la frecuencia de VPCs del 70% o mayor, como abolición de VPCs en el monitoreo de pacientes ambulatorios y supresión de las VT tanto sostenida como insostenida, durante un periodo de seguimiento mayor a 154 ± 58 días en el grupo A y 98 ± 42 días en el grupo B.

En el grupo A, la propafenona redujo la frecuencia de VPCs en 9 pacientes y abolió la VT no sostenida en 4 de 6 pacientes y la VT sostenida en 3 de 4 pacientes.

En el grupo B, la propafenona redujo la frecuencia de VPC en 6 pacientes y abolió la VT en 6 de 9 pacientes y la VT sostenida en 3 de 5 pacientes. Dos pacientes con VT sostenidas y recurrentes en

FARMACOLOGIA DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

este grupo, fueron tratados posteriormente con propafenona, 900 mg/día; en total, 8 de 9 pacientes con recurrencias de VT sostenidas fueron exitosamente tratados con 900 mg/día.

En base a lo anterior, concluyen que la propafenona es un fármaco antiarrítmico efectivo en el tratamiento de contracciones ventriculares prematuras crónicas y refractarias a otros medicamentos y que vienen acompañadas de taquicardias ventriculares no sostenidas. En el caso de que se presente con taquicardias ventriculares sostenidas y recurrentes, la dosis de 900 mg/día es mas efectiva para controlar las recurrencias de las taquicardias ventriculares. (tablas 3-5 y 3-6).

TABLA 3-5 CONCENTRACIONES PLASMATICAS, Y EFECTIVIDAD CLINICA EN EL GRUPO A.

No.	Conc. Plas. (mcg/ml)	Reducción VPC		Eliminación		Días sin recurrencia
		50 %	≥ 70 %	NSVT	SVT	
1	0.66	+	+	-	+	150
2	0.49	+	+			90
3	2.00	+	+	+	+	160
4	1.98	+	+			130
5	0.33	+	+	+		145
6	2.43	+	+	+		240
7	0.93	+	+			270
8	1.99	+	+	+	+	150
9	0.36	+	+			90
10	0.42	+	+	-	-	120
X±CV	1.16 ± 0.83					155 ± 58

NSVT= taquicardia ventricular no sostenida; CV= coeficiente de variación
SVT= taquicardia ventricular sostenida; VPC= contracciones ventriculares prematuras; + = presente, - = ausente.

TABLA 3-6 CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS, Y EFECTIVIDAD CLÍNICA EN EL GRUPO B.

No.	Conc. Plas. (mcg/ml)	Reducción VFC		Eliminación		Días sin recurrencia
		50 %	≥ 70 %	NEVT	SVT	
1	0.23	+	+	+	+	150
2	1.39	+	+	-	-	120
3	1.38	+	+	+	-	120
4	0.10	+	-	+	-	130
5	0.07	+	-	-	-	95
6	0.04	+	+	+	+	150
7	0.02	-	-	-	-	30
8	0.16	+	-	-	-	90
9	1.39	+	+	+	+	58
10	0.22	-	-	-	-	45
11	0.44	+	+	+	-	40
X±CV	0.54 ± 0.67					96 ± 42

Abreviaturas en la tabla 3-5 (ref. 28)

Breithardt G. et al.²⁹ realizaron un estudio en 47 pacientes, para determinar la efectividad de la propafenona, en la supresión de arritmias, en pacientes que padecen el síndrome de Wolff-Parkinson-White. Encontraron que la propafenona incrementa el periodo refractario efectivo de la vía accesoria de 238 a 322 ms ($p < 0.02$) en la dirección normal, mientras que en la dirección retrograda, el periodo refractario efectivo aumentó de 245 a 295 ms ($p < 0.01$), además, en 6 pacientes, se presentó un bloqueo completo en la dirección anterógrada. Por otra parte, en el estudio de administración crónica, (seguimiento de 2 a 3 años) 17 de 43 pacientes, no reportaron síntomas de taquicardia, en otros 18 la taquicardia fue rara y de poca duración. Únicamente en 3 pacientes

la severidad y frecuencia de los ataques no fue alterada.²⁹ Solo en dos pacientes fue necesario suspender el tratamiento, debido a los efectos adversos, en los demás pacientes los efectos adversos que se presentaron, fueron bien tolerados y resultaron ser dependientes de la dosis.²⁹

A partir de estos resultados, concluyeron que la propafenona es un fármaco antiarrítmico efectivo y bien tolerado, en el tratamiento crónico de pacientes con el síndrome de Wolff-Parkinson-White.²⁹

CONDUCCION INTRACARDIACA

Varios investigadores han reportado una correlación significativa entre la concentración plasmática de la propafenona y la conducción en el nodo auriculoventricular, manifestándose como cambios en el intervalo PR.^{7,9,12,16} En cambio, la correlación entre la concentración de la propafenona y la duración del QRS resultó más variable de acuerdo a los datos obtenidos por Siddoway *et al.*¹² Siddoway comenta que la propafenona produce cambios en algunos parámetros medidos durante pruebas electrofisiológicas, incluyendo la prolongación de los intervalos AH y HV incrementado los periodos refractarios efectivos en aurículas y ventrículos así como prolongando el tiempo de recuperación del nodo sinusal.¹⁸⁻²⁰

EFFECTOS ADVERSOS Y CONTRAINDICACIONES

La propafenona puede causar disturbios en la conducción cardiaca, que pueden provocar bradicardia. En común con otros agentes antiaritmicos, puede inducir arritmias en algunos pacientes. Entre los efectos adversos mas comunes estan: la intolerancia gastrointestinal, sabor amargo o metálico, mareo, visión borrosa, y fatiga. También han sido reportadas, convulsiones, incremento de enzimas hepáticas e impotencia.²⁷

La propafenona puede agravar ataques al corazón, y debe ser evitada en pacientes con disturbios en la conducción, de moderados a severos. Se debe de administrar con precaución a pacientes con insuficiencia cardiaca, bradicardia severa o hipotensión pronunciada. Los pacientes pueden ser monitoreados al inicio de la terapia, para ver si es necesario un cambio en la dosis, especialmente en casos que presenten fallas en la conducción o en el funcionamiento del ventriculo izquierdo.²⁷

Nathan A.W. *et al*^{27a} han asociado la terapia con propafenona con la exacerbación de una taquicardia ventricular en un hombre de 63 años de edad.^{27a}

Guindo J. *et al*^{27b} asociaron a la terapia con propafenona en dos ocasiones, con síntomas de lupus eritematoso y un aumento en el título de anticuerpos antinucleares en mujeres de 63 años de edad.^{27b}

Podrid P.J. *et al*²² reportaron que en un estudio realizado en 60 pacientes, con antecedentes de arritmias ventriculares refractarias, el 33 % presentó efectos adversos, tales como: náusea, insuficiencia cardíaca congestiva, agravación de la arritmia y anormalidades en la conducción.²²

Al realizar un estudio en 71 pacientes con una edad promedio de 53 años, que presentaban una variedad de arritmias ventriculares y auriculares, Coumel P. *et al*²³ encontraron lo siguiente:

EFECTOS ADVERSOS VARIOS

- En 10 pacientes se presentó un sabor amargo en la boca.
- 5 pacientes sufrieron náuseas y 3 vomito.
- Se observo disnea en 10 pacientes
- 7 pacientes presentron síntomas de fatiga.

En estos casos, se encontró que los efectos estaban relacionados con la dosis, y únicamente en 8 fue necesario discontinuar el tratamiento, en 4 debido a que la propafenona no fue efectiva (casos 15 a 17 y 21 tabla 3-3). y en los otros 4 por que la propafenona pudo ser sustituida por otros fármacos.

EFFECTOS ADVERSOS A NIVEL CARDIACO

En total se presentaron este tipo de efectos en 13 ocasiones, de estos, 9 se presentaron como marcada bradicardia en pacientes de sexo femenino. En 4 el tratamiento fue discontinuado por esta razón y en 5 la bradicardia fue tolerada.

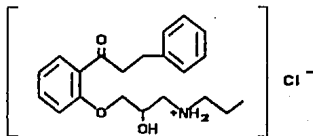
En un estudio realizado por Naccarella F. *et al*²⁸ en 21 pacientes que presentaban contracciones ventriculares prematuras (VPCs), acompañadas de taquicardias ventriculares (VT). Los efectos adversos incluyeron hipotensión y prolongación de los intervalos PR y QRS observados en 5 pacientes, de los cuales solo uno requirió disminución de la dosis.

CAPITULO IV

PROPIEDADES Y PERFIL ANALITICO DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

INFORMACION BIBLIOGRAFICA

FORMULA DESARROLLADA: ⁴⁰



FORMULA CONDENSADA: $C_{21}H_{28}ClNO_3$ ⁴⁰

PESO MOLECULAR: 377.92 ⁴⁰

SINONIMOS COMERCIALES: Rytmonorm, Rythmol, Normorytmin. ⁴⁰

NOMBRE QUIMICO:

Clorhidrato de 3-fenil-1-[2-[2-hidroxi-3-(propilamino)-propoxi]fenil]-1-propanona. ⁴⁰

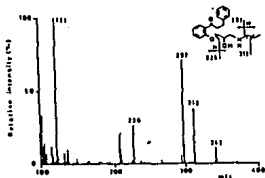
DESCRIPCION: Polvo cristalino, blanco o ligeramente amarillo, practicamente inodoro, con sabor amargo. ⁴⁰

PROPIEDADES Y PERFIL ANALITICO DEL CLORHIDRATO DE PROPAPFENONA

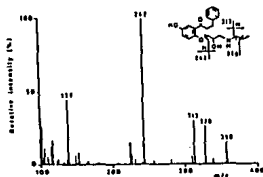
ESPECTROMETRIA DE MASAS

El espectro de masas, se ha utilizado como criterio de identificación de los picos obtenidos por HPLC para la propafenona y sus metabolitos, 5-hidroxi propafenona y N-depropilpropafenona. Los espectros correspondientes se presentan a continuación.³⁰

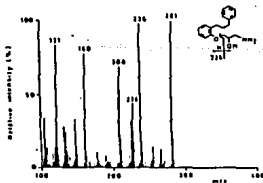
PROPAPFENONA



5-HIDROXIPROPAPFENONA



N-DEPROPIPROPAPFENONA



ESPECTRO DE MASAS Y PATRON DE FRAGMENTACION DE LA PROPAPFENONA, 5-HIDROXIPROPAPFENONA Y N-DEPROPIPROPAPFENONA

PROPIEDADES Y PERFIL ANALITICO DEL CLORIDRATO DE PROPAFENONA

CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCION CLAR

Para la cuantificación de propafenona en plasma se encuentran reportados métodos utilizando fase normal en las referencias 30, 31 y 32.

INFORMACION EXPERIMENTAL

PROPIEDADES FISICAS

PUNTO DE FUSION: 173-175°C

SOLUBILIDAD:

Determinadas por estabilización durante 48 hr a 20°C.

DISOLVENTE	SOLUBILIDAD (mg/ml)
Acetato de etilo	0.4
Coloroformo	1.9
Agua	4.5
Etanol	8.1
Metanol	31.3

PROPIEDADES Y PERFIL ANALITICO DEL CLORURO DE PROPAFENONA

DATOS ESPECTROSCOPICOS

ESPECTROSCOPIA UV

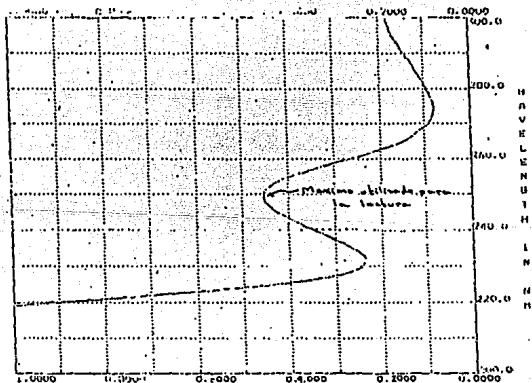
Espectro de absorción U.V. en agua.

ESPECIFICIDAD
TABLETAS DE CLORURO DE PROPAFENONA
ESTANDAR

BECKMAN

DU-64 SPECTROPHOTOMETER

WAVELENGTH



Scan Speed: 750 nm/min

PROPIEDADES Y PERFIL ANALITICO DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

Maximos de Absorción en varios disolventes.

DISOLVENTE	LONGITUD DE ONDA (nm)
HCl 0.1 N	250
H ₂ O	250
Etanol	247
Metanol	247

Absortividad molar y Extinc en agua a 250 nm:

$$\epsilon = 7471.5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$$\text{Extinc} = 197.7$$

PERFIL ANALITICO

ESPECTROFOTOMETRIA UV

El clorhidrato de propafenona puede ser analizado por espectrofotometria U.V. utilizando el máximo localizado cerca de los 250 nm.

TITULACION NO ACUOSA

El clorhidrato de propafenona se puede cuantificar directamente por titulación no acuosa, utilizando como disolvente ácido acético, en presencia de acetato mercurico y como reactivo

PROPIEDADES Y PERFIL ANALÍTICO DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

titulante una solución de ácido perclórico en acético, el punto final se puede detectar potenciométricamente o utilizando cristal violeta como indicador visual. ⁴¹

CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA CCD

Se puede separar la propafenona, utilizando como fase estacionaria Silica Gel G254, como fase móvil una solución compuesta por cloroformo:metanol:hidróxido de amonio,90:9:1, obteniendo un Rf de aproximadamente 0.5.

CAPITULO V

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD

ELECCION DEL TIPO DE LA TECNICA ANALITICA A UTILIZAR

De lo expuesto en el capítulo anterior, se observa que se puede elegir entre desarrollar un método por cromatografía de líquidos de alta resolución, un método espectrofotométrico, o uno por titulación no acuosa. Por razones de tiempo y costo se descartó el método cromatográfico, y por razones de tiempo, y precisión se descartó el método por titulación no acuosa, ya que para poder aplicar esta técnica se requiere una extracción previa. Se decidió entonces desarrollar un método espectrofotométrico, el cual como desventaja tiene su poca especificidad, por lo que el objetivo que se planteó fue desarrollar un método espectrofotométrico lo suficientemente específico para ser utilizado en control de calidad, manteniendo las ventajas de la técnica espectrofotométrica en cuanto a rapidez, exactitud y precisión, además de bajo costo.

DISEÑO DEL METODO

El primer paso para el diseño fue encontrar la concentración adecuada para la lectura al espectrofotómetro, para lo cual se

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD

construyo una curva de calibración del clorhidrato de propafenona utilizando agua como disolvente, y leyendo a 250 nm, obteniendo los siguientes datos.

$$\epsilon = 7471.5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}; E_{1\%1\text{cm}} = 197.7$$

De donde se deduce que para una absorbancia de 0.5 la concentración del principio activo debe ser alrededor de 25 $\mu\text{g/ml}$. Una vez obtenido este dato se procedió a diseñar la técnica para la preparación de la muestra, para lo cual se tomó en cuenta que el clorhidrato de propafenona es altamente soluble en metanol, y que algunos componentes de la formulación que pueden interferir en la lectura, pueden ser separados mediante filtración, ya que son insolubles en metanol.

1) REACTIVOS, SOLUCIONES Y EQUIPO:

a) Reactivos:

- Metanol R.A
- Propafenona clorhidrato sustancia de referencia.

b) Solución patrón de referencia.- Pesar exactamente y por duplicado, alrededor de 20 mg de clorhidrato de propafenona sustancia de referencia. Pasar el polvo a un matraz volumetrico de 25 ml, disolver y llevar a volumen con metanol. Transferir 3 ml de la solución anterior a un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a volumen con agua.

Solución R.- Concentración $\pm 24 \mu\text{g/ml}$.

c) Equipo:

- Espectrofotómetro Beckman DU-64

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD

II) PREPARACION DE LA MUESTRA:

Pesar 20 tabletas y determinar el peso promedio, triturarlas hasta polvo fino y pesar la cantidad equivalente a 40 mg de clorhidrato de propafenona por triplicado.

Pasar el polvo a matraces volumétricos de 50 ml, agregar 30 ml de metanol y agitar por 10 minutos, y llevar a volumen con metanol, mezclar y filtrar a través de papel. Transferir inmediatamente 3 ml del filtrado a un matraz volumétrico de 100 ml, llevar a volumen con agua y mezclar.

Solucion P. - Concentración $\pm 24 \mu\text{g/ml}$.

III) PROCEDIMIENTO:

Determinar la absorbancia de las soluciones R y P a la longitud de onda del máximo (aproximadamente 250 nm) utilizando como blanco una solución de metanol al 3%.

IV) PRECAUCIONES:

Desechar los primeros mililitros del filtrado, ya que el clorhidrato de propafenona tiende a ser retenido en el papel filtro.

Evitar al máximo la evaporación del metanol durante la filtración, y transferir inmediatamente la alícuota al matraz volumétrico de 100 ml.

Se realizaron algunas pruebas mas antes de validar la técnica, mediante las cuales se definió que los puntos criticos de la técnica eran la posible evaporación del metanol, y la retención de la propafenona en el papel filtro, por lo que se añadieron las notas de precaución al final de la técnica, y con esta técnica escrita se procedió a realizar la validación del método.

RESULTADOS DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA CONTROL DE CALIDAD

Para llevar a cabo la validación del método se realizaron las siguientes determinaciones:

- Especificidad
- Linearidad del sistema
- Precisión del sistema
- Linearidad del método
- Exactitud del método al 100%
- Estabilidad de la muestra
- Reproducibilidad del método

Todos los criterios de aceptación que se indican, corresponden a los recomendados por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C. dentro de los requisitos mínimos para la validación de métodos analíticos.²²

ESPECIFICIDAD

Se realizó analizando placebo, estándar y muestra, obteniendo los espectros de absorción de las soluciones finales.

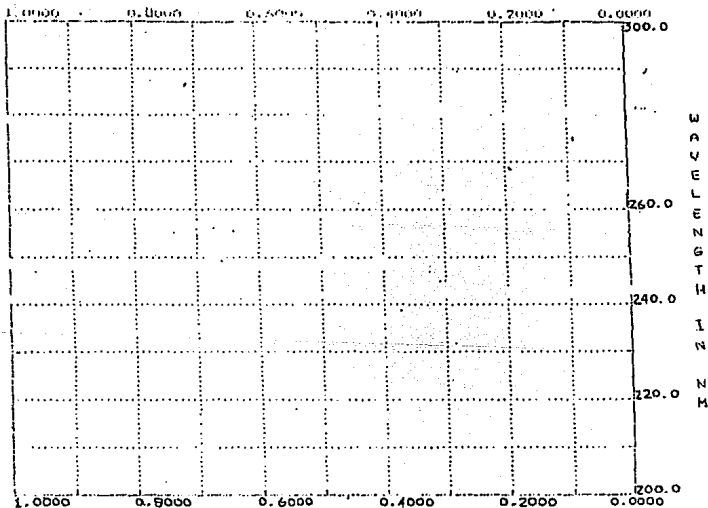
Como se muestra en la fig 8-1, el placebo no presenta respuesta y no existe tampoco diferencia significativa entre el estándar y la muestra, por lo que se concluye que el método es adecuado, en cuanto a especificidad se refiere, para ser utilizado como técnica analítica de control de calidad.

Fig. 8-1a

ESPECIFICIDAD
TABLETAS DE CLORHIDRATO DE PROPAFENONA
PLACEDO

BECKMAN
DU-64 SPECTROPHOTOMETER

ABSORBANCE



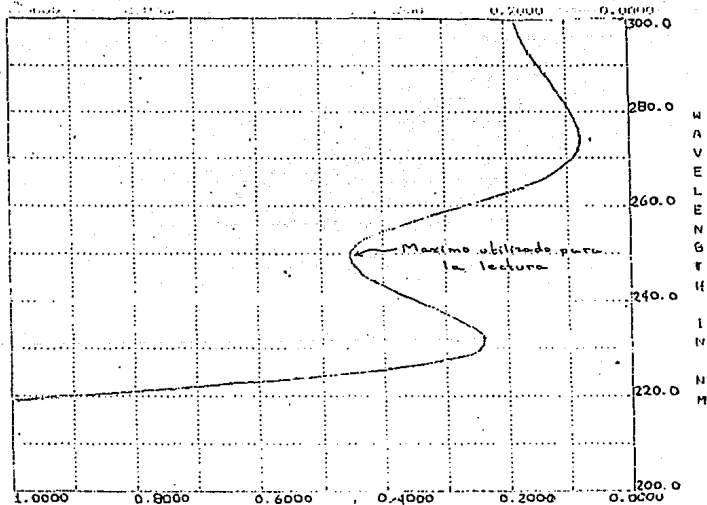
Scan Speed: 750 nm/min

Fig. 6-1b

ESPECIFICIDAD
TABLETAS DE CLORHIDRATO DE PROPAFENONA
ESTANDAR

BECKMAN
DU-64 SPECTROPHOTOMETER

ABSORBANCE

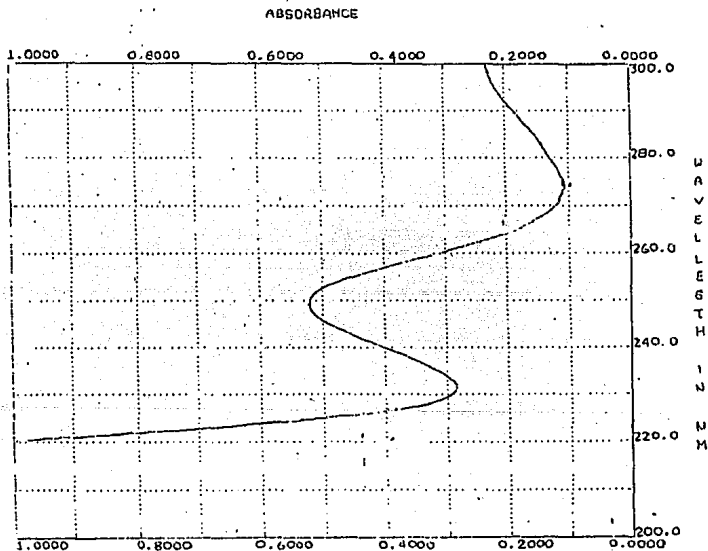


Scan Speed: 750 nm/min

Fig. 6-1c

ESPECIFICIDAD
TABLETAS DE CLORHIDRATO DE PROPAFENONA
PROBLEMA

BECKMAN
DU-64 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 200 nm/min

LINEARIDAD DEL SISTEMA

Se determinó construyendo una curva de calibración, partiendo de una misma solución patrón, obteniendo por diluciones 5 diferentes concentraciones y realizando el análisis por duplicado para cada concentración.

Datos obtenidos

CONCENTRACION ($\mu\text{g/ml}$)	A B S O R B A N C I A	
	ANALISIS 1	ANALISIS 2
8.34	0.174	0.174
16.68	0.333	0.332
25.02	0.502	0.509
33.36	0.666	0.668
41.70	0.833	0.829

Pendiente (m) = $0.01977 \text{ ml } \mu\text{g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Intercepto (b) = 0.00745

Coefficiente de determinación (r^2) = 0.9998

CRITERIO DE ACEPTACION: $b \cong 0$, $r^2 \geq 0.98$

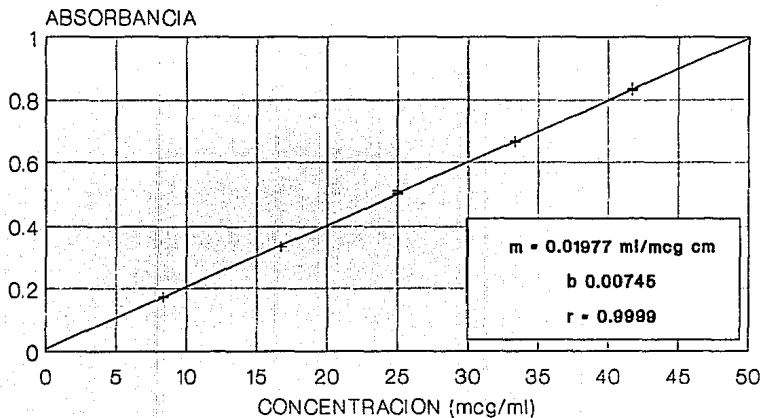
RESULTADOS: Satisfactorio

El método satisface los requerimientos establecidos para la linealidad del sistema, lo cual indica que el sistema es lineal cuando menos en el intervalo de 8.34 a 41.70 $\mu\text{g/ml}$.

CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

LINEARIDAD DEL SISTEMA

METODO PARA CONTROL DE CALIDAD



+ Datos — Línea de regresion

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD

PRECISION DEL SISTEMA

Se determinó la absorbancia de 6 soluciones con una concentración equivalente al 100%, (24 $\mu\text{g/ml}$) obtenidas por dilución de una misma solución patrón.

Datos obtenidos

ABSORBANCIA
0.501
0.501
0.500
0.507
0.508
0.508

Media (\bar{x}) = 0.5038

Desv. Estándar(DE) = 0.003545

Coef. de Variación(CV) = 0.704%

CRITERIO DE ACEPTACION: $CV \leq 1.5\%$

RESULTADO: Satisfactorio

El método satisface con amplio margen el límite especificado, lo cual indica que el sistema es lo suficientemente preciso para los fines con que se desea utilizar el método.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD**LINEARIDAD DEL METODO**

Se realizó con placebos adicionados de estándar, obteniendo concentraciones equivalentes al 75, 100 y 125% y analizando 3 muestras para cada concentración.

Datos obtenidos

(%)	x= CANTIDAD ADICIONADA (mg)	y= CANTIDAD RECUPERADA (mg)
75	15.3	15.5
75	15.3	15.4
75	15.2	15.0
100	20.3	20.1
100	20.1	20.4
100	19.3	19.8
125	25.1	25.4
125	25.3	25.2
125	24.7	24.8

Pendiente (m) = 1.004

Intercepto (b) = 0.0312

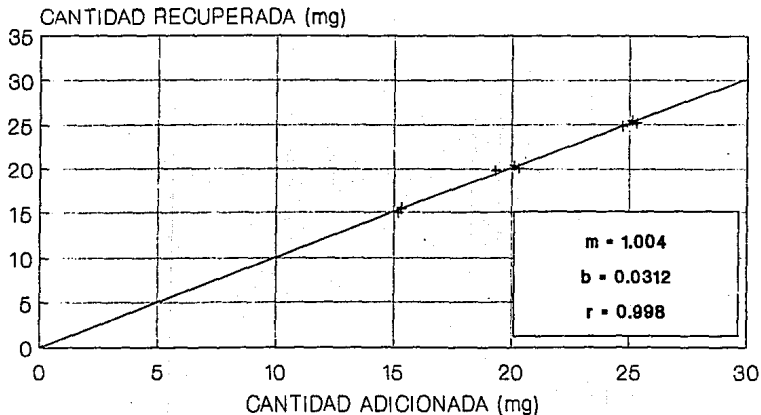
Coefficiente de determinación (r^2) = 0.997

CRITERIO DE ACEPTACION: $m \geq 1$, $b \geq 0$, $r^2 \geq 0.98$

CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

LINEARIDAD DEL METODO

METODO PARA CONTROL DE CALIDAD



+ Datos — Línea de regresion

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD

C (%)	PORCIENTO RECUPERADO		
	ANALISIS 1	ANALISIS 2	ANALISIS 3
75	101.31	100.65	98.68
100	99.01	101.49	102.59
125	101.19	99.60	100.40

NIVEL	\bar{x}	D.E.	C.V.
75 %	100.21	1.368	1.365
100 %	101.03	1.834	1.815
125 %	100.397	0.795	0.792

Media global (\bar{x}) = 100.55 %

Desviación estándar global (D.E.) = 1.27

Coefficiente de variación global (C.V.) = 1.26 %

CRITERIO DE ACEPTACION

El promedio de los porcentos de recobro para cada nivel y el global deberán caer dentro del intervalo de 97.0 - 103.0 %, y los coeficientes de variación para cada nivel y el global deberán ser menores al 3.0 %

RESULTADO: Satisfactorio

El método cumple con amplio margen los requisitos establecidos para la linealidad del método, lo cual indica que el método es lineal, cuando menos en el intervalo de 75 a 125%, respecto a la cantidad teórica especificada por el mismo método.

EXACTITUD DEL METODO AL 100 %

Se realizó analizando 6 placebos adicionados de estándar, en una cantidad equivalente al 100%

Datos obtenidos

PORCIENTO RECUPERADO	
99.75	99.50
99.68	101.10
102.70	102.40

Media (\bar{X}) = 100.85 %

Desv. Estándar (D.E.) = 1.44

Coef. de Variación (C.V.) = 1.43 %

Int. de Confianza (I.C.) = 99.34 a 102.38 %

CRITERIO DE ACEPTACION

C.V \leq 3%

El promedio de recobro deberá estar entre el 97 y 103 %

RESULTADO: Satisfactorio

El método satisface los requerimientos establecidos para la exactitud al 100% por lo que se concluye que el método es exacto a esta concentración.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Se realizó mediante el reanálisis después de 24 horas de almacenamiento a temperatura ambiente, de 3 muestras preparadas y analizadas inicialmente para la linealidad del método y cuya concentración era equivalente al 100 %. La muestra almacenada correspondió a la solución que se utiliza para la lectura.

Datos obtenidos

CONDICION	INICIAL	TEMP. AMB. 24 hr
MUESTRA 1	102.36 %	102.32 %
MUESTRA 2	101.59 %	101.09 %
MUESTRA 3	103.89 %	103.58 %
PROMEDIO	102.61 %	102.33 %
VARIANZA	1.3708	1.5501

$$Sp^2 = 1.48035$$

$$I.C. = -2.46 \text{ a } 3.02$$

CRITERIO:

La muestra es estable, si en el intervalo de confianza para la diferencia entre las medias, esta incluido el valor de cero.

RESULTADO: Satisfactorio

En el intervalo de confianza para la diferencia entre las medias esta incluido el valor de cero, por lo que se puede concluir que la solución para la lectura es estable por lo menos durante 24 horas a temperatura ambiente.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD

PRECISION (Reproducibilidad)

Se llevo a cabo con 2 analistas, en 2 días, realizando cada uno el análisis de la muestra por triplicado en cada día.

Se utilizó una misma muestra homogénea, obtenida a partir de la pulverización de tabletas de un mismo lote.

Datos obtenidos

		ANALISTA	
		1	2
D	1	99.62 %	100.65 %
		99.45 %	101.32 %
		100.96 %	101.25 %
I	2	100.63 %	100.14 %
		101.27 %	100.71 %
		101.43 %	100.39 %

Media \bar{x} = 100.65%

Desv. Estándar (D.E) = 0.6558

Coef. de Variación (C.V) = 0.65%

CRITERIO DE ACEPTACION:

$C.V \leq 3\%$

RESULTADO: Satisfactorio

El coeficiente de variación total cumple con amplio margen el límite especificado.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO PARA CONTROL DE CALIDAD

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA					
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABLAS
ANALISTA	1	9.635×10^{-2}	9.635×10^{-2}	7.83×10^{-2}	38.51
DIA	2	2.4609	1.2305	4.5439	6.06
ERROR	8	2.1663	0.2708		

Dado que la F_{cal} es menor que F_{tab} , para el factor analista, se concluye que el analista no influye significativamente en el resultado del análisis.

Dado que la F_{cal} es menor que F_{tab} , para el factor día, se concluye que el día no influye significativamente en el resultado del análisis.

EVALUACION DE LA PRECISION

Repetibilidad = 0.52

Reproducibilidad interdía anidado en el analista = 0.56

Reproducibilidad interanalista = 0.56

Los valores tan bajos obtenidos, indican la poca variación en los resultados del método, aun cambiando el día de análisis o el analista que lo efectúa.

CAPITULO VI

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

ELECCION DE LA TECNICA ANALITICA A UTILIZAR

Para desarrollar un método indicativo de estabilidad aplicable a las tabletas de clorhidrato de propafenona, se puede utilizar un método por cromatografía en capa fina, o uno por cromatografía de alta resolución. Después de comparar las ventajas y desventajas de estas dos técnicas analíticas, se decidió desarrollar el método, por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR).

Lo que motivó la elección fue que la CLAR es una técnica que en términos generales es más exacta y reproducible que la cromatografía en capa fina y por otra parte, que la principal desventaja de esta técnica que es el alto costo del equipo estaba salvada dado que el laboratorio donde se realizó el desarrollo ya contaba con el cromatógrafo. Sin embargo otra desventaja de esta técnica es el elevado costo por análisis, este inconveniente debía ser superado durante el desarrollo. Es decir que el método desarrollado además de ser exacto y preciso a fin de que cumpliera todos los requerimientos para su validación, debería tener el menor costo por análisis posible.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

El objetivo de tener un bajo costo por análisis fue abordado en los siguientes aspectos:

TIPO DE FASE ESTACIONARIA Y COLUMNA

En relación a la columna se planteó el objetivo de utilizar una columna de 30 cm de largo, y 4.1 mm de diámetro, con fase estacionaria de tipo octadecilsilano, forma amorfa y de 10 μ m de diámetro nominal. Dado que este tipo de columna es la que en ese momento se utilizaba para el análisis de los diversos productos del laboratorio, y por ende el método resultaría mas costeable si se utilizara el mismo tipo de columna ya que de esta forma no sería necesario invertir en una columna para el análisis de un producto.

COMPONENTES DE LA FASE MOVIL

En relación a la fase móvil, se plantearon los siguientes objetivos.

- El costo de su preparación deberá ser lo mas bajo posible.
- Deberá ser poco agresiva a la columna para mantener la vida de esta.
- Deberá ser compatible con las demas fases móviles que se utilizan en el laboratorio, por lo que no deberá contener reactivos de par iónico.
- Deberá permitir un tiempo de corrida pequeño, manteniendo la especificidad necesaria de un método indicativo de estabilidad.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

PREPARACION DE LA MUESTRA

En este caso, se planteó que resultara rápida, sencilla, que requiriera poca cantidad de disolventes, y además que las muestras deberían ser estables, no agresivas a la columna y adecuadas para que el método fuera exacto y preciso,

TIEMPO DE ANALISIS

Con el objeto de minimizar el costo por análisis, se planteó que el tiempo de análisis fuera lo más corto posible, incluyendo la preparación de la muestra, estabilización del sistema y el tiempo de corrida.

OBJETIVOS PARA EL DESARROLLO

Los objetivos planteados, permitieron elaborar un plan para el desarrollo del método, el cual se presenta a continuación.

1) ELECCION DE LOS COMPONENTES DE LA FASE MOVIL.

Como primera elección se pensó en una mezcla metanol:agua, por ser la de menor costo.

Dado que la propafenona contiene grupos altamente polares, puede ser necesario adicionar algún tipo de sal a la fase móvil, tomando en cuenta que las sales más frecuentemente utilizadas en el laboratorio, son los fosfatos, estos deberán tomarse como la primera opción a probar.

DESARROLLO Y VALIACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

2) OPTIMIZACION DE LAS CONCENTRACIONES DE CADA COMPONENTE DE LA FASE MOVIL Y DE LAS CONDICIONES DEL EQUIPO.

La optimización deberá tomar en cuenta los siguientes aspectos.

a) Especificidad del método:

Para asegurar que el método en desarrollo cumpla con los requisitos de especificidad para ser utilizado como método indicativo de estabilidad, es necesario utilizar una muestra que contenga los productos de degradación del producto.

b) Precisión del método:

Para lograr que el método desarrollado sea preciso, es necesario optimizar las concentraciones de los componentes de la fase móvil, así como de las condiciones del aparato, para obtener picos con distribución gaussiana, afilados y poco coleados para así obtener áreas más reproducibles.

c) Duración de la columna:

Para lograr una mayor duración de la columna es necesario encontrar la concentración mínima de sales que puede ser utilizada, manteniendo las condiciones establecidas para lograr la precisión del método.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

d) Tiempo de corrida:

Debe encontrarse la relación de concentración de disolventes y la velocidad de flujo, que permita cumplir con los aspectos anteriormente mencionados, y tener el tiempo de corrida mas corto posible.

3) ELECCION DE LA CONCENTRACION DE LA MUESTRA, Y DISEÑO DE LA PREPARACION DE LA MUESTRA.

Para la elección de la concentración de la muestra, se deberán tomar en cuenta los siguientes aspectos.

- a) Nivel de ruido
- b) Forma del pico
- c) Duración de la columna (a menor concentración mayor duracion de la columna)
- d) Sensibilidad del equipo
- e) Linearidad del sistema

Para el diseño de la preparación de la muestra se deberán tomar en cuenta:

- a) Disponibilidad de material y disolventes.
- b) Concentración de la muestra.
- c) Reproducibilidad de la muestra.
- d) Estabilidad de la muestra.
- e) Tiempo de preparación.
- f) Consumo de disolventes.
- g) Duración de la columna.

CRONOLOGIA Y RESULTADOS DEL DESARROLLO

Se probaron inicialmente, mezclas metanol:agua y acetonitrilo:agua encontrando que en estas condiciones, se obtienen picos coleados, y el tiempo de retención entre inyecciones varia mucho. Este comportamiento fue explicado en base a la hipótesis de que la propafenona estaba siendo retenida, tanto en las fases polares, por un mecanismo de adsorción, como en las fases no polares por un mecanismo de reparto, siendo la competencia entre ambos mecanismos, la causa de la poca reproducibilidad del tiempo de retención y el coleamiento de los picos.

En base a la hipótesis planteada se decidió probar el efecto de la adición de fosfatos a la fase móvil, como mecanismo de competencia por las fases polares. Para ello se utilizó una solución de fosfatos 0.02 M, con un pH de 3.

Se probaron mezclas de acetonitrilo:sol. de fosfatos, encontrando que a una relación 80:40, se obtienen picos afilados, y poco coleados con un tiempo de retención de aproximadamente 5 min. (fig. 8-1).

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

CHANNEL A INJECT 09/08/90 15:02:36 STORED TO BIN # 17

4.21

DATA SAVED TO BIN # 17

PROPAFENONA 09/08/90 15:02:36 CH= "A" PS= 1.

FILE	METHOD	RUN	INDEX	BIN
1.	0.	17	17	17

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.305	2.4	16157.01
2	0.129	2.94	6870.02
3	0.375	3.52	19251.02
4	0.078	3.67	4145.02
5	99.111	4.21	5248288.01
TOTAL	100.		5295152

Fig. 6-1 Muestra de tabletas de clorhidrato de propafenona, fase móvil acetónitrilo; Sol. de fosfatos 0.02 M pH 3, vel de flujo 1 ml/min. $\lambda = 248$ nm, columna μ bondapak C-18.

Al momento de llegar a esta fase no se contaba con las muestras degradadas, por lo que se decidió terminar el desarrollo del método y comenzar su validación, para posteriormente probar si era lo suficientemente específico para ser considerado como indicativo de estabilidad.

Se procedió al diseño de una técnica adecuada para la preparación de la muestra, quedando finalmente la técnica, como se muestra a continuación.

PREPARACION DE LA MUESTRA

Pesar 10 tabletas y determinar el peso promedio, triturarlas hasta polvo fino. Pesar exactamente y por duplicado, aproximadamente el equivalente a 40 mg de clorhidrato de propafenona, transferir el polvo a un matraz volumétrico de 25 ml, disolver y llevar a volumen con metanol. Transferir 3 ml de la solución anterior a un matraz volumétrico de 50 ml y llevar a volumen con agua.

Solución P.- Concentración $\pm 96 \mu\text{g/ml}$

PREPARACION DE LA SOLUCION DE REFERENCIA

Pesar exactamente y por duplicado, alrededor de 20 mg de clorhidrato de propafenona, sustancia de referencia, y transferir el polvo a un matraz volumétrico de 25 ml, disolver y llevar a volumen con metanol. Transferir 3 ml de la solución anterior a un matraz volumétrico de 25 ml y llevar a volumen con agua.

Solución R.- Concentración $\pm 96 \mu\text{g/ml}$

PROCEDIMIENTO

Inyectar 20 μl de la solución R, hasta que el CV sea menor al 2%.

Inyectar las muestras, alternando una inyección de estándar, con 3 inyecciones de muestra.

CONDICIONES DEL APARATO

Fase móvil: Acetonitrilo: Solución de fosfatos 0.02 M,
pH=3 80:40.

Vel. de flujo= 1 ml/min

$\lambda = 248 \text{ nm}$

Columna : Fase octadecilsilano, tamaño de partícula 10 μm , longitud 30 cm, diámetro interno 4.1 mm.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

Se comenzó la validación del método obteniendo buenos resultados para la linealidad y precisión del sistema, linealidad del método y exactitud del método al 100 %. En cuanto a la especificidad del método, se analizaron muestras expuestas a distintas condiciones encontrándose que solo en medio alcalino se detectan productos de degradación tanto de la propafenona, como de la formulación, separándose adecuadamente el pico del producto de degradación del pico de la propafenona, pero no así los picos debidos a la degradación de la formulación. Dado que el método no tenía la especificidad necesaria como para ser considerado indicativo de estabilidad se procedió a modificar el método a fin de que cumpliera con este requisito.

Se comenzó por buscar la relación de disolventes en la fase móvil, necesaria para lograr una adecuada separación. Se inició probando mezclas metanol : sol. de fosfatos. Como solución de prueba se utilizó una muestra preparada, a partir de la formulación degradada en condiciones alcalinas.

Se comenzó por probar una relación 80:40 a una velocidad de flujo de 1 ml por minuto, obteniendo el cromatograma que se presenta en la fig. 6-2.

CHANNEL A INJECT 23/08/90 10:27:41 STORED TO BIN # 4

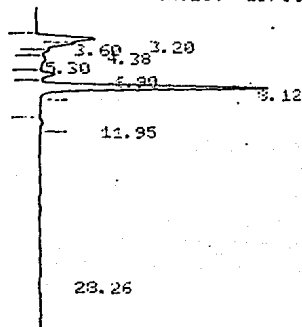


Fig. 6-2 Clorhidrato de propafenona, muestra degradada en condiciones alcalinas, sistema metanol: Sol. de fosfatos pH 3, 60:40 vel de flujo 1 ml/min, $\lambda=248$ nm.

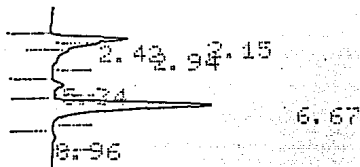
Con este sistema se logró separar la propafenona de los productos de degradación que interferían con el método anterior. Por lo que se procedió a optimizar las condiciones del método.

El siguiente paso fue lograr una mayor separación entre el producto de degradación que sale a los 6.9 min y la propafenona que sale a los 8.12, para lo cual se disminuyó la concentración de metanol en la fase móvil. Se probó una relación 55:45 y se aumentó la velocidad de flujo de 1 ml/min a 1.5 ml/min, con lo que se

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

logró una mayor separación y se disminuyó considerablemente el tiempo de corrida. (fig. 6-3)

CHANNEL A INJECT 29/08/90 11:06:16



DATA SAVED TO BIN # 5

PROPAFENONA

29/08/90

Fig. 6-3 Muestra de tabletas de clorhidrato de propafenona, degradadas en condiciones alcalinas, Sistema metanol: Sol. de fosfatos pH 8 0.02 M 95:5, vel. de flujo 1.5 ml/min. $\lambda=240$ nm.

Aún cuando con este sistema el pico de la propafenona no era muy afilado y se coleaba un poco, fue considerado como satisfactorio, por lo que se procedió a probar la especificidad del método, utilizando muestras degradadas en otras condiciones, tales como, solución ácida, tratamiento con H_2O_2 , exposición prolongada a alta temperatura, exposición a luz U.V. y luz ambiental. Al igual que con el método anterior, no se observaron productos de degradación en ninguna de estas muestras.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

La siguiente prueba que se hizo, fue la determinación de la concentración óptima de la solución de fosfatos. Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla.

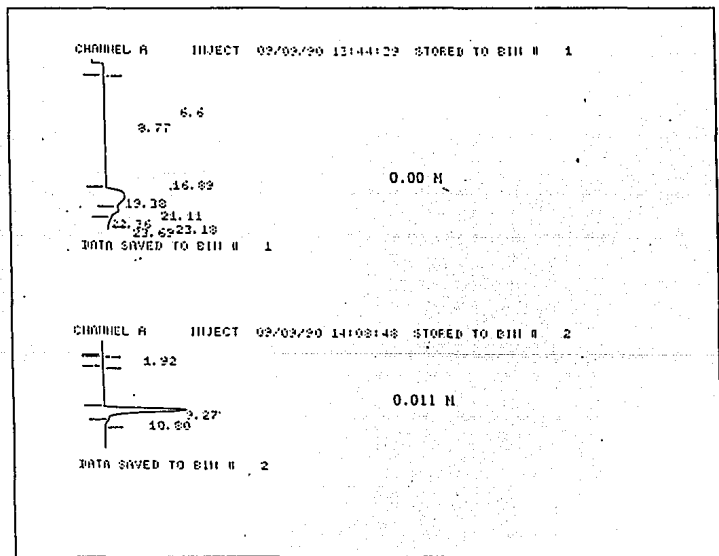
Conc. de la Solucion (M)	Características del pico
0.00	Se observan 2 picos unidos, de baja altura y muy anchos. El segundo pico además se integra en dos. El tiempo de retención se alarga mucho.
0.011	Se observa un pico de mediana altura, ligeramente ancho y coleado, el integrador asume la presencia de dos picos.
0.022	Se observa un pico medianamente coleado.
0.033	A esta concentración el pico se ve mas afilado, pero se ve ligeramente mas coleado que el anterior.
0.044	En estas condiciones el pico se colea aun mas.
0.055	El pico obtenido en estas condiciones se colea excesivamente.

En la figura 6-4 se muestran los picos obtenidos para cada concentración de la solución de fosfatos. Es facil observar que con una concentración de alrededor de 0.02 M se obtiene la forma mas adecuada de los picos. Dado que aún a la concentración óptima no es posible eliminar totalmente el coleo, se decidió variar la

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

relación metanol:solución para ver si era posible mejorar la forma de los picos. Sin embargo al probar una relación 60:40 con lo que se esperaría una mejora, los picos obtenidos se colearon aun mas, a pesar de estar mas afilados. (fig. 6-5).

Fig. 6-4 CROMATOGRAMAS OBTENIDOS DURANTE LA OPTIMIZACION DE LA CONCENTRACION DE LA SOLUCION DE FOSFATOS.



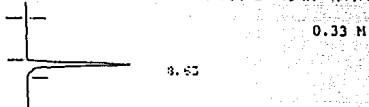
DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

CHANNEL A INJECT 09/09/90 14:26:22 STOPED TO BILL # 3



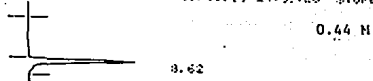
DATA SAVED TO BILL # 3

CHANNEL A INJECT 09/09/90 14:42:20 STOPED TO BILL # 4



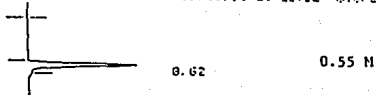
DATA SAVED TO BILL # 4

CHANNEL A INJECT 09/09/90 14:53:26 STOPED TO BILL # 5



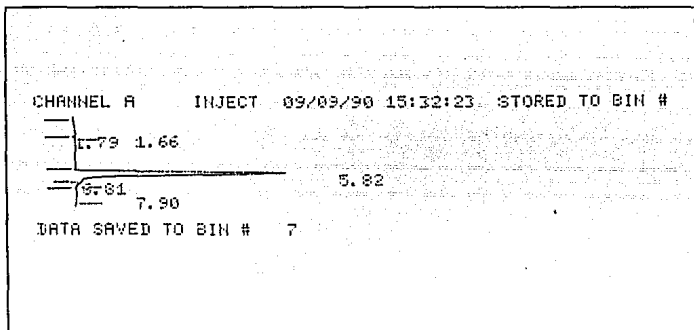
DATA SAVED TO BILL # 5

CHANNEL A INJECT 09/09/90 15:13:22 STOPED TO BILL # 6



DATA SAVED TO BILL # 6

Fig. 6-5 CROMATOGRAMAS OBTENIDOS AL PROBAR UNA RELACION 60:40 DE METANOL:SOLUCION DE FOSFATOS, DURANTE LA OPTIMIZACION DE LA CONCENTRACION DE LA SOLUCION DE FOSFATOS.



Debido a que los resultados obtenidos indicaban que el método podía funcionar adecuadamente utilizando la relación 55:45 metanol:sol. de fosfatos pH 3, 0.02 M. se decidió dar por terminada la fase del desarrollo, para dar comienzo a la validación. Quedando finalmente la técnica como se indica a continuación.

TECNICA ANALITICA

EQUIPO:

Cromatógrafo Watters mod 600E, equipado con inyector tipo USBK, detector UV-VIS mod 484 con longitud de onda variable e integrador Watters

REACTIVOS Y SOLUCIONES

Clorhidrato de propafenona, sustancia secundaria de referencia.

Metanol R. A.

Metanol grado HPLC

Fosfato de potasio monobásico R. A.

Acido fosfórico R. A.

Agua destilada

PREPARACION DE LA FASE MOVIL

Adicionar a una solución 0.02 M de fosfato monobásico de potasio, la cantidad necesaria de una solución 0.02 M de ácido fosfórico, para alcanzar un pH de 3.

Mezclar metanol grado HPLC con la solución anterior en una relación 55:45, y filtrar a través de una membrana de 0.45 μ m tipo HV y degasificar por medio de ultrasonido.

PREPARACION DE LA MUESTRA

Pesar no menos de 10 tabletas y determinar el peso promedio, triturarlas hasta obtener un polvo fino, pesar exactamente y por triplicado aproximadamente el equivalente a 40 mg de clorhidrato de propafenona, transferir el polvo a un matraz volumétrico de 25 ml, disolver y llevar a volumen con metanol.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

Transferir 3 ml de la solución anterior a un matraz volumétrico de 50 ml y llevar a volumen con agua.

Solución P.- Concentración $\pm 98 \mu\text{g/ml}$

PREPARACION DE LA SOLUCION DE REFERENCIA

Pesar exactamente y por duplicado, aproximadamente 20 mg de clorhidrato de propafenona, sustancia de referencia, transferir el polvo a un matraz volumétrico de 25 ml, disolver y llevar a volumen con metanol. Transferir 3 ml de la solución anterior a un matraz volumétrico de 25 ml y llevar a volumen con agua.

Solución R.-Concentración $\pm 98 \mu\text{g/ml}$

PROCEDIMIENTO

Inyectar 20 μl de la solución R hasta obtener un CV menor al 2 %.

Inyectar las muestras, alternando una inyección de estándar, por cada 3 inyecciones de muestra.

CONDICIONES DEL APARATO

Columna: Fase estacionaria octadecilsilano forma amorfa, tamaño de partícula nominal 10 μm , longitud 30 cm, diámetro interno 4.1 mm.

Fase móvil: Metanol : Solución de fosfatos 0.02 M pH= 3, 55:45

Velocidad de flujo: 1.5 ml/min

Longitud de onda (λ) : 248 nm

Escala de absorbancia : AUFS 1.00

RESULTADOS DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO
INDICATIVO DE ESTABILIDAD

Para realizar la validación, se llevaron a cabo las siguientes determinaciones, las cuales fueron elegidas, tomando en cuenta el tipo de método desarrollado, y la aplicación a la cual está destinado, en base los protocolos y criterios del Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A. C.²²

Especificidad del método

Linealidad del sistema

Precisión del sistema

Linealidad del método

Exactitud y repetibilidad del método al 100 %

Reproducibilidad del método

Estabilidad de la muestra

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

ESPECIFICIDAD DEL METODO

Para demostrar que el método es capaz de cuantificar la propafenona, sin la interferencia de sus productos de degradación o los de la formulación, se analizaron muestras degradadas bajo las condiciones que se indican en la siguiente tabla.

MUESTRA	TIPO DE EXPOSICION					
	Temp. Ambiente	Acida	Alcalina	Oxidacion	Luz U.V.	Temp.
PLACEBO	98 días	24 hr en HCl 0.1 N a 60 °C	20 hr en KOH/MeOH 0.1 N a 60 °C	72 hr en H ₂ O ₂ al 15 %	98 días	98 días a 60 °C
MATERIA PRIMA	98 días	24 hr en HCl 0.1 N a 60 °C	20 hr en KOH/MeOH 0.1 N a 60 °C	72 hr en H ₂ O ₂ al 15 %	98 días	98 días a 60 °C
TABLETAS	98 días	24 hr en HCl 0.1 N a 60 °C	20 hr en KOH/MeOH 0.1 N a 60 °C	72 hr en H ₂ O ₂ al 15 %	98 días	98 días a 60 °C

Solo se detectaron productos de degradación en las muestras expuestas a condiciones alcalinas, en la fig. 7-6 se muestra un cromatograma representativo en el cual se puede observar que el pico de la propafenona esta adecuadamente separado de los picos debidos a productos de degradación de la propafenona y de la formulación.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

Cabe señalar que los picos obtenidos al analizar el placebo de la formulación degradado en condición alcalina, da lugar a los picos que se observan entre los 2.15 y 2.94 minutos, y que al tiempo en que se presenta el pico de la propafenona no se detecta ningún pico. Esto confirma que la formulación y sus posibles productos de degradación no provocan ninguna interferencia en el análisis.

Por otra parte, dado que al analizar muestras degradadas de clorhidrato de propafenona por este método, y utilizando un sistema acetonitrilo: sol. de fosfatos 80:40, se detectan los mismos productos de degradación, aunque a distintos tiempos, esto disminuye al mínimo la posibilidad de que un producto de degradación este saliendo al mismo tiempo que la propafenona.

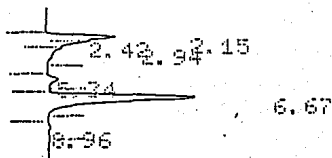
Al analizar las muestras en las demas condiciones, no se detectaron productos de degradación, esto aunado al resultado obtenido anteriormente, utilizando un sistema acetonitrilo: sol. de fosfatos, en el cual tampoco se detectaron productos de degradación, nos indica que la propafenona puede ser analizada con el método propuesto sin la interferencia de los posibles productos de degradación.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

Tiempos de retención aproximados.

Compuesto	Tiempo de retencion aprox.
Propafenona	6.67 min
Producto. de degradacion de la propafenona	5.34 min
Productos de degradación de la formulación	Entre 2.15 y 2.94 min

CHANNEL A INJECT 29/08/90 11:06:16



DATA SAVED TO BIN # 5

PROPAFENONA

29/08/90

Fig. 7-6 Muestra: tabletas de clorhidrato de propafenona degradadas en condiciones alcalinas. Fase móvil: metanol:sol. de fosfatos 0.02 M pH 3 $\lambda=240$ nm, Vel. de flujo 1.5 ml/min. Columna 30 cm por 4.1 mm, fase estacionaria: octadecilsilano de forma amorfa y 10 micras de diametro nominal

Los resultados anteriores permiten concluir que el método desarrollado es lo suficientemente específico para ser utilizado en la cuantificación de propafenona en tabletas, durante un estudio de estabilidad.

LINEARIDAD DEL SISTEMA

Se determinó construyendo una curva de calibración, partiendo de una misma solución patrón, obteniendo por diluciones 5 diferentes concentraciones y realizando el análisis por duplicado para cada concentración.

Datos obtenidos

CONCENTRACION ($\mu\text{g/ml}$)	A R E A	
	ANALISIS 1	ANALISIS 2
32.0	972942	969780
64.0	1948134	1958385
96.0	2925566	2912129
128.0	3925156	3896488
160.0	4957132	4929828

Pendiente (m) = 30943.16

Intercepto (b) = -30991.15

Coefficiente de determinación (r^2) = 0.9998

CRITERIO DE ACEPTACION: $b \geq 0$, $r^2 \geq 0.98$

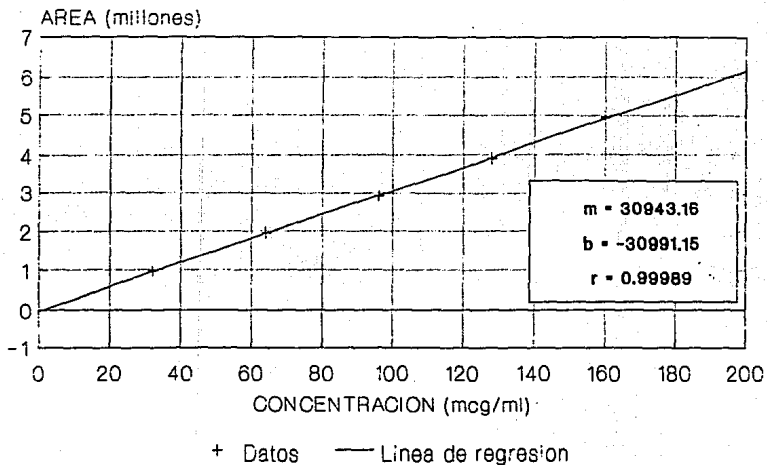
RESULTADOS: Satisfactorio

El método satisface los requerimientos establecidos para la linealidad del sistema, lo cual indica que el sistema es lineal cuando menos en el intervalo de 32 a 160 $\mu\text{g/ml}$.

CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

LINEARIDAD DEL SISTEMA

METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD



DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

PRECISION DEL SISTEMA

Se analizaron 6 soluciones con una concentración de 96 µg/ml, obtenidas por dilución de una misma solución patrón.

Datos obtenidos

A R E A S
2925568
2912129
2921783
2931309
2920921
2911581

Media \bar{X} = 2920544.8

Desv. Estandar(DE) = 7688.56

Coef. de Variación(CV) = 0.263 %

CRITERIO DE ACEPTACION: CV ≤ 1.5%

RESULTADO: Satisfactorio

El método satisface con amplio margen el límite especificado, lo cual indica que el sistema es lo suficientemente preciso para los fines con que se desea utilizar el método.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

LINEARIDAD DEL METODO

Se realizó con placebos adicionados de estandar, obteniendo cantidades equivalentes al 50, 100 y 150% y analizando 3 muestras para cada concentración.

Datos obtenidos

(%)	x= CANTIDAD ADICIONADA (mg)	y= CANTIDAD RECUPERADA (mg)
50	20.7	20.56
50	20.3	20.37
50	20.1	19.49
100	39.9	40.41
100	39.8	40.45
100	40.3	39.99
150	60.3	59.84
150	60.2	60.00
150	60.3	59.69

Pendiente (m) = 0.994833

Intercepto (b) = 0.085534

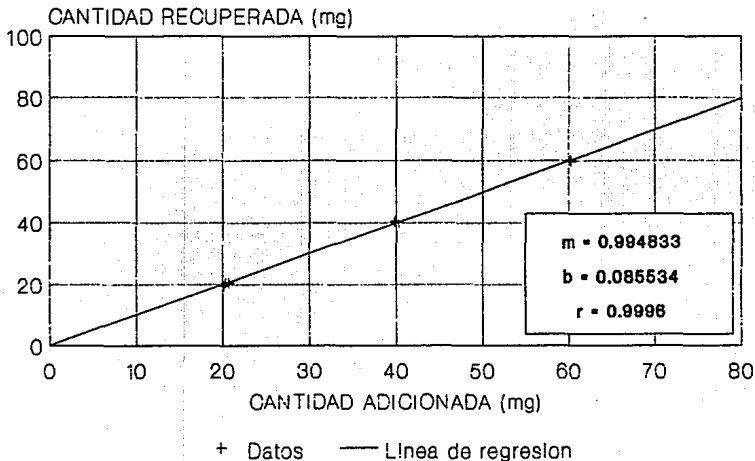
Coefficiente de determinación (r^2) = 0.9993

CRITERIO DE ACEPTACION: $m \cong 1$, $b \cong 0$, $r^2 \geq 0.98$

COLORHIDRATO DE PROPAFENONA

LINEARIDAD DEL METODO

METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD



DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDIATIVO DE ESTABILIDAD

C (%)	PORCIEN TO RECUPERADO		
	ANALISIS 1	ANALISIS 2	ANALISIS 3
50	99.32	100.34	98.96
100	101.27	100.57	101.63
150	99.24	99.67	98.99

NIVEL	\bar{x}	D.E.	C.V.
50 %	98.87	1.734	1.753
100 %	101.16	0.539	0.533
150 %	99.3	0.344	0.346

Media global(\bar{x}) = 99.628

Desv. Estandar global(D.E) = 1.376

Coef. de Variación global(C.V %) = 1.381 %

CRITERIO DE ACEPTACION

El promedio de los porcentos de recobro para cada nivel y el global deberán caer dentro del intervalo de 98.0- 102.0 %, y los coeficientes de variación para cada nivel y el global, deberán ser menores al 2.0 %.

RESULTADO: Satisfactorio

El método cumple con todos los requerimientos establecidos para la linealidad, lo cual indica que el método es lineal cuando menos en el intervalo del 50 a 150 % en la cantidad adicionada, con respecto a la cantidad teórica especificada en el método.

EXACTITUD Y REPTETIBILIDAD DEL METODO AL 100 %

Se realizó analizando 6 placebos adicionados de estandar, en una cantidad equivalente al 100%

Datos obtenidos

PORCIENTOS	RECUPERADOS
101.3	101.6
100.6	99.2
96.4	100.7

Media (\bar{x}) = 99.97 %

Desv. Estandar (D.E) = 1.93

Coef. de Variación (C.V) = 1.93 %

Int. de Confianza (I.C) = 97.94 a 102.00 %

CRITERIO DE ACEPTACION

C. V \leq 2%

El promedio de recobro deberá estar entre el 98.0 y 102.0 %

RESULTADO: Satisfactorio

El método satisface los requerimientos establecidos para la exactitud al 100% por lo que se concluye que el método es exacto a esta concentración.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Se realizó mediante el reanálisis después de 24 horas de almacenamiento a temperatura ambiente, de 3 muestras preparadas y analizadas inicialmente para la linealidad del método y cuya concentración era equivalente al 100 %. La muestra almacenada correspondió a la solución para inyectar al cromatografo.

Datos obtenidos

CONDICION	INICIAL	TEMP. AMB. 24 hr
MUESTRA 1	100.57 %	99.40 %
MUESTRA 2	99.23 %	99.58 %
MUESTRA 3	100.67 %	99.53 %
PROMEDIO	100.16 %	99.50 %
VARIANZA	0.64653	0.00863

$$Sp^2 = 0.32758$$

$$I.C. = -0.64 \text{ a } 1.96 \%$$

CRITERIO

La muestra es estable, si en el intervalo de confianza para la diferencia entre las medias, esta incluido el valor de cero.

RESULTADO: Satisfactorio

En el intervalo de confianza para la diferencia entre las medias esta incluido el valor de cero, por lo que se puede decir que la solución para inyectar es estable por lo menos durante 24 horas a temperatura ambiente.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

PRECISION [Reproducibilidad]

Se llevo a cabo con 2 analistas, en 2 días, realizando cada uno el análisis de la muestra por triplicado en cada día.

Se utilizó una misma muestra homogénea, obtenida a partir de la pulverización de tabletas de un mismo lote.

Datos obtenidos

		ANALISTA	
		1	2
D	1	101.39 %	98.01 %
		101.46 %	101.64 %
		102.31 %	101.35 %
A	2	99.40 %	97.45 %
		100.18 %	99.99 %
		98.23 %	99.46 %

Media (\bar{x}) = 100.0725 %

Desv. Estandar (D.E.) = 1.599

Coef. de Variación (C.V.) = 1.598 %

CRITERIO DE ACEPTACION:

C.V. \leq 2%

RESULTADO: Satisfactorio

El coeficiente de variación total cumple con el límite especificado.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO INDICATIVO DE ESTABILIDAD

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA					
FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABLAS
ANALISTA	1	2.1510	2.1510	0.3647	38.51
DIA	2	11.7968	5.8984	3.3277	6.06
ERROR	8	14.1800	1.7725		

INTERPRETACION

Dado que F_{cal} es menor que F_{tab} , para el factor analista, se concluye que el analista no influye significativamente en el resultado del análisis.

Dado que F_{cal} es menor que F_{tab} , para el factor día, se concluye que el día no influye significativamente en el resultado del análisis.

EVALUACION DE LA PRECISION

Repetibilidad = ± 1.33

Debido a que ni el factor analista ni el día tienen influencia significativa en el resultado del análisis, la reproducibilidad interdía/analista, y la reproducibilidad interanalista pueden ser consideradas iguales a la repetibilidad.

CAPITULO VII

COMPARACION DE LOS METODOS ANALITICOS

Con el fin de determinar si los dos métodos analíticos desarrollados y validados pueden ser utilizados en forma indistinta para el control de calidad del producto, sin que se presenten diferencias significativas entre los resultados obtenidos por uno y otro método, se realizó una comparación estadística a partir de los datos obtenidos durante la validación de cada método.

Los parámetros comparados en este estudio fueron los siguientes:

Repetibilidad del método al 100 %

Repetibilidad del método en el intervalo de 75 a 125 %

Exactitud del método al 100 %

Linearidad del método en el intervalo de 75 a 125 %

Reproducibilidad del método.

Para efectos de esta comparación, se denomina al método analítico para el control de calidad de tabletas de clorhidrato de propafenona como "Método 1", y al método analítico indicativo de estabilidad como "Método 2".

REPETIBILIDAD DEL METODO AL 100 %

Se realizó mediante la comparación de las varianzas de los métodos obtenidas para el estudio de exactitud y repetibilidad al 100 %.

Datos previos:

Desviación estándar método 1 (DE_1) = 1.44

Número de replicaciones método 1 (N_1) = 6

Desviación estándar método 2 (DE_2) = 1.93

Número de replicaciones método 2 (N_2) = 6

Cálculos preliminares:

Varianza método 1 (V_1) = $(DE_1)^2 = (1.44)^2 = 2.0736$

Varianza método 2 (V_2) = $(DE_2)^2 = (1.93)^2 = 3.7249$

Cálculos finales:

F_{tab} para N_1 grados de libertad en el numerador, N_2 grados de libertad en el denominador y una probabilidad acumulada de 0.975

$F_{(6/6, 0.975)} = 5.82$

Límite superior para el intervalo de confianza (LSIC):

$$LSIC = \frac{V_1}{V_2} \times F$$

$$LSIC = \frac{2.0736}{3.7249} \times 5.82 = 3.24$$

Límite inferior para el intervalo de confianza (LIIC):

$$LIIC = \frac{V_1}{V_2} \times \frac{1}{F}$$

$$LIIC = \frac{2.0736}{3.7249} \times \frac{1}{5.82} = 0.096$$

Intervalo de confianza: 0.096 a 3.24

INTERPRETACION:

Dado que en el intervalo de confianza para la razón de varianzas se encuentra incluido el valor de 1, se concluye que no existe diferencia significativa en la repetibilidad del método al 100 %.

REPETIBILIDAD DEL METODO EN EL INTERVALO DE 75 A 125 %

Se realizó mediante la comparación de las varianzas de los métodos, obtenidas a partir del estudio de linealidad del método, dado que el intervalo estudiado para el método 1 fue menor que el del método 2, la interpretación se realiza sobre el intervalo estudiado para el método 1, es decir de 75 a 125 %.

Datos previos:

$$DE_1 = 1.27 \quad N_1 = 9$$

$$DE_2 = 1.376 \quad N_2 = 9$$

Cálculos preliminares:

$$V_1 = (DE_1)^2 = (1.27)^2 = 1.6129$$

$$V_2 = (DE_2)^2 = (1.376)^2 = 1.8934$$

Cálculos finales:

$$F_{(9/9, 0.975)} = 4.03$$

Límite superior del intervalo de confianza:

$$LSIC = \frac{V_1}{V_2} \times F = \frac{1.6129}{1.8934} \times 4.03$$

$$LSIC = 3.43$$

Límite inferior del intervalo de confianza:

$$LIIC = \frac{V_1}{V_2} \times \frac{1}{F} = \frac{1.6129}{1.8934} \times \frac{1}{4.03}$$

$$LIIC = 0.211$$

Intervalo de confianza: 0.211 a 3.43

INTERPRETACION:

Dado que en el intervalo de confianza para la razón de varianzas se encuentra incluido el valor de 1, se concluye que no existe diferencia significativa en la repetibilidad del método en el intervalo de 75 a 125 %.

EXACTITUD DEL METODO AL 100 %

Se realizó mediante la comparación de las medias obtenidas de los porcentajes recuperados del estudio de exactitud y repetibilidad al 100 %. Dado que no se encontró diferencia significativa en la repetibilidad del método al 100 %, la comparación se realiza bajo la premisa de que ambos métodos tienen la misma repetibilidad.

Datos previos:

Media de los porcentajes recuperados del método 1 (\bar{x}_1) = 100.85

Media de los porcentajes recuperados del método 2 (\bar{x}_2) = 99.97

DE₁ = 1.44 N₁ = 6

DE₂ = 1.93 N₂ = 6

Cálculos preliminares:

Varianza ponderada (S_p²)

$$S_p^2 = \frac{(N_1 - 1)(DE_1)^2 + (N_2 - 1)(DE_2)^2}{N_1 + N_2 - 2}$$

$$S_p^2 = \frac{(6 - 1)(1.44)^2 + (6 - 1)(1.93)^2}{6 + 6 - 2} = 2.899$$

$$S_p^2 = 2.899$$

Cálculos finales:

Valor para la t de student con $(N_1 + N_2 - 2)$ grados de libertad y una probabilidad acumulada de 0.975

$$t_{(10, 0.975)} = 2.228$$

Límite superior del intervalo de confianza para la diferencia de medias:

$$LSIC = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) + t \sqrt{\frac{S_p^2}{N_1} + \frac{S_p^2}{N_2}}$$

$$LSIC = (100.85 - 99.97) + 2.228 \sqrt{\frac{2.899}{8} + \frac{2.899}{8}}$$

$$LSIC = 3.07$$

Límite inferior del intervalo de confianza para la diferencia de medias:

$$LIIC = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - t \sqrt{\frac{S_p^2}{N_1} + \frac{S_p^2}{N_2}}$$

$$LIIC = (100.85 - 99.97) - 2.228 \sqrt{\frac{2.899}{8} + \frac{2.899}{8}}$$

$$LIIC = -1.31$$

Intervalo de confianza: -1.31 a 3.07

INTERPRETACION:

Dado que en el intervalo de confianza para la diferencia de las medias de los porcentos recuperados, se encuentra localizado el valor de cero, se concluye que no existe diferencia significativa en la exactitud al 100 % entre ambos métodos.

EXACTITUD DEL METODO EN EL INTERVALO DE 75 A 125 %

Se realizó mediante la comparación de las medias obtenidas de los porcentajes recuperados del estudio de linealidad del método.

Dado que no se encontró diferencia significativa en la repetibilidad del método en el intervalo de 75 a 125 %, la comparación se realiza bajo la premisa de que ambos métodos tienen la misma repetibilidad.

Datos previos:

$$\begin{array}{lll} \bar{x}_1 = 100.55 & DE_1 = 1.27 & N_1 = 9 \\ \bar{x}_2 = 99.628 & DE_2 = 1.376 & N_2 = 9 \end{array}$$

Cálculos preliminares:

$$S_p^2 = \frac{(N_1-1)(DE_1)^2 + (N_2-1)(DE_2)^2}{N_1 + N_2 - 2}$$

$$S_p^2 = \frac{(9-1)(1.27)^2 + (9-1)(1.376)^2}{9 + 9 - 2} = 1.753$$

Cálculos finales:

$$t_{(16, 0.975)} = 2.120$$

Límite superior del intervalo de confianza para la diferencia de medias:

$$LSIC = (100.55 - 99.63) + 2.120 \sqrt{\frac{1.753}{9} + \frac{1.753}{9}}$$

$$LSIC = 2.24$$

Límite inferior del intervalo de confianza para la diferencia de medias:

$$LIIC = (100.55 - 99.63) - 2.120 \sqrt{\frac{1.753}{9} + \frac{1.753}{9}}$$

$$LIIC = -0.403$$

Intervalo de confianza: -0.403 a 2.24

INTERPRETACION:

Dado que en el intervalo de confianza para la diferencia de las medias de los porcentos recuperados de ambos métodos se encuentra el valor de cero, se concluye que no existe diferencia significativa en la exactitud de ambos métodos, en el intervalo de 75 a 125 %.

COMPARACION DE LOS METODOS ANALITICOS

LINEARIDAD DEL METODO

Con el fin de determinar si existe o no diferencia significativa en la linealidad de los dos métodos, se compararon sus respectivas pendientes y ordenadas al origen.

PENDIENTES

Se realizó la comparación de las pendientes mediante una prueba de *t* de student.

Datos previos

DATO	METODO 1	METODO 2
Σx	180.6	361.9
Σx^2	3788.0	16940.95
Σy	181.6	360.8
Σy^2	3809.88	16829.603
Σxy	3788.64	16884.377
b	0.0312	0.0855
m	1.0040	0.9948
n	9	9
t	1	1

Cálculos preliminares:

Varianza ponderada del error de regresión.

$$S_{ep}^2 = \frac{\left[\sum y_1^2 - m_1 \sum xy_1 - b_1 \sum y_1 \right] + \left[\sum y_2^2 - m_2 \sum xy_2 - b_2 \sum y_2 \right]}{t_1 n_1 + t_2 n_2 - 4}$$

$$S_{ep}^2 = \frac{0.39952 + 2.17636}{14} = 0.18399$$

Varianza ponderada para la pendiente:

$$S_{mp}^2 = S_{ep}^2 \left[\frac{1}{\sum x_1^2 - (\sum x_1)^2 / n_1 t_1} + \frac{1}{\sum x_2^2 - (\sum x_2)^2 / n_2 t_2} \right]$$

$$S_{mp}^2 = 0.18399 \left\{ \frac{1}{3768 - \left[\frac{(180.8)^2}{9} \right]} + \frac{1}{16940.95 - \left[\frac{(381.8)^2}{9} \right]} \right\}$$

$$S_{mp}^2 = 0.001355$$

Varianza ponderada para el intercepto:

$$S_{bp}^2 = S_{ep}^2 \left\{ \frac{1}{n_1 t_1} + \frac{1}{n_2 t_2} + \frac{(\sum x_1)^2}{n_1^2 t_1^2 [\sum x_1^2 - (\sum x_1)^2 / n_1 t_1]} + \frac{(\sum x_2)^2}{n_2^2 t_2^2 [\sum x_2^2 - (\sum x_2)^2 / n_2 t_2]} \right\}$$

$$S_{b_p}^2 = 0.18399 \left[\frac{1}{9} + \frac{1}{9} + \frac{32816.36}{11680.76} + \frac{130971.61}{193472.46} \right]$$

$$S_{b_p}^2 = 0.18399(3.69827) = 0.68008$$

Valor de la t de student con n_1+n_2-4 grados de libertad y 0.975 de probabilidad acumulada.

$$t_{(0.975,14)} = 2.145$$

Cálculos finales

Intervalo de confianza para la diferencia entre las pendientes:

Límite superior del intervalo de confianza:

$$LSIC = (m_1 - m_2) + t \sqrt{S_{m_p}^2}$$

$$LSIC = (1.004 - 0.9948) + 2.145 \sqrt{0.001355}$$

$$LSIC = 0.08816$$

Límite inferior del intervalo de confianza:

$$LIIC = (m_1 - m_2) - t \sqrt{S_{m_p}^2}$$

$$LIIC = (1.004 - 0.9948) - 2.145 \sqrt{0.001355}$$

$$LIIC = -0.06976$$

Intervalo de confianza: -0.06976 a 0.08816

INTERPRETACION:

Dado que en el intervalo de confianza para la diferencia entre las pendientes se encuentra el valor de cero, se concluye que no existe diferencia significativa entre las pendientes de los dos métodos.

Intervalo de confianza para la diferencia de los interceptos:

Límite superior del intervalo de confianza:

$$LSIC = (b_1 - b_2) + t \sqrt{Sb_p^2}$$

$$LSIC = (0.0312 - 0.0855) + 2.145 \sqrt{0.68011}$$

$$LSIC = -0.0543 + 1.7689 = 1.7146$$

Límite inferior del intervalo de confianza:

$$LIIC = (b_1 - b_2) - t \sqrt{Sb_p^2}$$

$$LIIC = (0.0312 - 0.0855) - 2.145 \sqrt{0.68011}$$

$$LIIC = -0.0543 - 1.7689 = -1.8232$$

Intervalo de confianza: -1.8232 a 1.7146

INTERPRETACION:

Dado que en el intervalo de confianza para la diferencia entre los interceptos se encuentra incluido el valor de cero, se concluye que no existe diferencia entre los interceptos de las linealidades de los dos métodos.

REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

Se realizó mediante la comparación de las varianzas totales obtenidas a partir del estudio de reproducibilidad de cada método.

Datos previos:

$$DE_1 = 0.6558 \quad N_1 = 12$$

$$DE_2 = 1.599 \quad N_2 = 12$$

Cálculos preliminares:

$$V_1 = (DE_1)^2 = (0.6558)^2 = 0.43007$$

$$V_2 = (DE_2)^2 = (1.599)^2 = 2.5568$$

Cálculos finales:

$$F_{(12/12, 0.975)} = 3.28$$

Límite superior del intervalo de confianza:

$$LSIC = \frac{V_1}{V_2} \times F = \frac{0.43007}{2.5568} \times 3.28 = 0.5517$$

Límite inferior del intervalo de confianza:

$$LIIC = \frac{V_1}{V_2} \times \frac{1}{F} = \frac{0.43007}{2.5568} \times \frac{1}{3.28} = 0.0513$$

Intervalo de confianza: 0.0513 a 0.5517

INTERPRETACION:

Dado que en el intervalo de confianza para la razón de varianzas no se encuentra el valor de 1, se concluye que existe una diferencia significativa en la reproducibilidad de ambos métodos.

Esto es debido a que el método para control de calidad es muy poco variable, por lo que la diferencia entre este y el método indicativo de estabilidad es estadísticamente significativa, sin embargo, en la práctica esta diferencia no representa un problema importante, ya que en realidad los dos métodos tienen una variabilidad pequeña, lo cual es evidente al observar los coeficientes de variación total de cada método, obtenidos en los respectivos estudios de reproducibilidad, (0.65 % y 1.6 %).

CAPITULO VIII

DISCUSION DE RESULTADOS

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA CONTROL DE CALIDAD

Como objetivo para el desarrollo de este método, se planteó que la técnica fuera rápida, sencilla y de bajo costo. Y además que el método en su conjunto fuera específico, exacto y preciso.

En relación a los dos primeros puntos, el método desarrollado fue satisfactorio, ya que resulta ser bastante sencillo, para la preparación de la muestra solo es necesario disolver, filtrar y hacer una dilución lo cual es fácil y rápido. En relación al aspecto del costo, los dos principales componentes del costo de análisis son el costo debido al tiempo de análisis y el costo de reactivos. Como ya se mencionó, el costo por tiempo de análisis fue optimizado, y en cuanto a reactivos, los que se utilizan son el clorhidrato de propafenona sustancia de referencia, y el metanol R.A. En el caso del primero, tomando en cuenta las características del método, el uso al cual esta destinado y a que mediante técnicas cromatográficas no se detectaron impurezas ni sustancias relacionadas en la materia prima, se determinó que era

DISCUSION DE RESULTADOS

factible utilizar como sustancia de referencia, clorhidrato de propafenona materia prima adecuadamente estandarizada.

En el caso del metanol, se utilizan 250 ml para el análisis de la primera muestra, y 150 ml por cada muestra adicional, esto debido a que el análisis se realiza por triplicado para cada muestra, este volumen puede parecer muy elevado, sin embargo, el gasto de disolvente considero que queda compensado por las ventajas del método, principalmente en relación al tiempo de análisis.

Los otros objetivos planteados para el desarrollo del método estan relacionados con la habilidad de este para cuantificar adecuadamente el clorhidrato de propafenona y en este caso se demostró haber alcanzado los objetivos planteados mediante la validación del método. En relación a esto cabe discutir los resultados obtenidos en los siguientes aspectos.

ESPECIFICIDAD DEL METODO

Con el objeto de lograr que el método tuviera la capacidad de cuantificar el clorhidrato de propafenona, sin interferencia de la formulación, el método indica que la muestra inicialmente se disuelva en metanol, disolvente en el cual la propafenona es muy soluble, pero no así otros componentes interferentes de la formulación. De esta manera, al realizar la filtración se eliminan algunas de las sustancias interferentes, logrando con esto así

DISCUSION DE RESULTADOS

como con la adecuada elección de la longitud de onda, la especificidad del método. Esto fue demostrado mediante la obtención de los espectros de absorción de muestras preparadas a partir de placebo del producto, clorhidrato de propafenona materia prima y producto terminado. En dichos espectros, se observa que el placebo no proporciona ninguna respuesta, y por otra parte al comparar el espectro del producto y el del clorhidrato de propafenona materia prima, no se detectaron diferencias significativas.

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100 %

Para lograr que el método cumpliera con estos requisitos, se trabajó desde la etapa de diseño, al elegir la concentración para la lectura y el disolvente a utilizar, hasta finalmente en la técnica analítica escrita, en donde se le indica al analista las precauciones que debe tener al realizar el análisis.

Los resultados obtenidos para la repetibilidad y exactitud al 100% ($\bar{x}=100.85$, $CV=1.43\%$, $IC=99.34$ a 102.36 ,) demuestran que el método es lo suficientemente exacto y repetible, tomando como referencia los requisitos mínimos para la validación de métodos analíticos³⁹ y el criterio estadístico que indica que en el intervalo de confianza para la media debe localizarse el 100 %.

DISCUSION DE RESULTADOS

Al comparar los resultados obtenidos con otros criterios reportados para la repetibilidad del método, por ejemplo el propuesto por Fontani *et al*³⁴ y Debesis *et al*³⁵ que proponen que cuando el análisis se realiza por triplicado, si el intervalo de aceptación para el producto es de 90 a 110%, el coeficiente de variación no debe ser mayor al 6.7%. se concluye que el método desarrollado cumple también con este criterio.

Por otra parte en relación con los criterios reportados para la exactitud al 100 %, Fontani *et al*³⁴ proponen el uso de una prueba de *t* de student similar al intervalo de confianza mencionado y con el cual el método desarrollado cumplió satisfactoriamente, mientras que Ficarro *et al*³⁶ y Debesis *et al*³⁵ recomiendan usar como criterio, que el porciento de recobro de todas la muestras deberá caer dentro del intervalo del porciento teorico $\pm 4s$, donde *s* es la desviacion estándar. En este caso el intervalo de aceptación resultante va de 94.24 a 105.76 %, dado que todos los porcientos recuperados obtenidos caen dentro de dichos límites, el método cumple también con este criterio.

LINEARIDAD DEL METODO

Tomando como base que el objetivo del método es para aplicarse al control de calidad del producto, y a que el intervalo de aceptación del producto va de 90 a 110 %, se decidió que la

DISCUSION DE RESULTADOS

linealidad del método cubriera el rango del 75 al 125%. Los resultados obtenidos satisfacen los requisitos mínimos para la validación de métodos analíticos,³⁸ y además cumplen los criterios recomendados por Vanderwielen³⁸ que indican que ningún valor de porcentaje recuperado deberá diferir en más de un 5%, y que a ningún nivel deberá presentarse una diferencia significativa mayor al 1.5%. En relación al coeficiente de correlación, el mínimo aceptable que recomienda es de 0.95.

Con el objeto de determinar si el valor de la pendiente y del intercepto diferían significativamente de 1 y cero, se construyeron sus respectivos intervalos de confianza a un nivel de significancia del 90%³⁹:

Intervalo de confianza para la pendiente: 0.9632 a 1.0448

Intervalo de confianza para el intercepto: -0.803 a 0.866

Por lo tanto, la pendiente no difiere significativamente de 1 y el intercepto no difiere significativamente de cero.

PRECISION DEL METODO

Este es otro parámetro de suma importancia de cualquier método analítico, ya que brinda información sobre la posible dispersión en los resultados obtenidos, ya sea en los resultados de un mismo analista dentro de una corrida analítica, la variación posible entre dos corridas analíticas efectuadas por el mismo analista y

finalmente la dispersión que se pudiera obtener cuando el análisis lo efectúan dos analistas diferentes.

Como requisito mínimo se estipula que el coeficiente de variación no debe ser mayor al 3 %, criterio que el método desarrollado satisface ampliamente siendo el CV total de 0.65%.

En este trabajo además de obtener el coeficiente de variación se realizó el estudio de análisis de varianza mediante el cual se determinó que con la técnica desarrollada, ni el analista ni la corrida analítica influyen significativamente en el análisis.

Se obtuvieron además los siguientes datos:

Repetibilidad: ± 0.52

Reproducibilidad interdía anidado en el analista = ± 0.56

Reproducibilidad interanalista = ± 0.56

Estos valores indican la poca variación en los resultados obtenidos con el método desarrollado, aun variando el día de análisis o el analista que lo efectúa, mostrando la calidad del método desarrollado.

DESARROLLO Y VALIDACION DEL METODO ANALITICO

INDICATIVO DE ESTABILIDAD

Para el desarrollo de este método se planteó que este debería en primer lugar ser apto para la cuantificación del clorhidrato de propafenona, durante un estudio de estabilidad, probando esta aptitud mediante su validación tomando como base los requisitos mínimos para la validación de métodos analíticos,³³ y en segundo lugar, que el costo por análisis fuera lo mas bajo posible.

El objetivo de tener un bajo costo de análisis fue desglosado en una serie de objetivos específicos, los cuales se muestran a continuación junto con el resultado obtenido para cada uno.

a) TIPO DE FASE ESTACIONARIA. La fase estacionaria que desde el punto de vista económico, resultó ideal, fue una columna con fase estacionaria tipo octadecilsilano de forma amorfa, de 30 cm de longitud por 4.1 mm de diámetro, con un tamaño de partícula nominal de 10 μm . Este objetivo se cumplió satisfactoriamente ya que el método desarrollado utiliza este tipo de columna.

b) COMPONENTES DE LA FASE MOVIL. En este aspecto también se lograron buenos resultados, ya que como fase móvil óptima se planteó una preparada a base de metanol:agua y que en caso de

requerir la adición de alguna sal, las de primera elección serian los fosfatos, sistema que es utilizado en el método desarrollado, así mismo la concentración de fosfatos óptima fue baja, por lo que no resulta excesivamente agresiva a la columna, el pH de la fase móvil es de 3 el cual no es demasiado ácido para este tipo de columna. La concentración de los componentes de la fase móvil y la velocidad de flujo fueron optimizados a fin de que el método fuera específico y el tiempo de corrida fuera lo mas corto posible, en este aspecto se optimizó el tiempo de corrida hasta aproximadamente 10 minutos tiempo bastante bueno para un método indicativo de estabilidad.

c) PREPARACION DE LA MUESTRA. El diseño para la preparación de la muestra es sumamente sencillo y de bajo costo ya que utiliza solamente 25 ml de metanol. Dadas las características de la técnica diseñada, permite evitar el paso de la filtración en el caso de que se utilice una precolumna para el análisis, esto debido a que la cantidad de materia en suspensión que contiene la dilución a inyectar es sumamente baja debido primero al bajo volumen transferido de la primera solución, y segundo por que gran parte del material en suspensión transferido se disuelve en el agua que se utiliza en la segunda dilución.

d) TIEMPO DE ANALISIS. Tomando en cuenta que se trata de un método indicativo de estabilidad, se puede considerar que el tiempo de análisis es pequeño. esto fue logrado, por la sencillez de la preparación de la solución de referencia y de las muestras, el corto tiempo de estabilización, (aproximadamente 20 min), el cual se logra debido al tipo de fase estacionaria, a la fase móvil, y a la longitud de onda utilizada para la detección. Así mismo, el tiempo de corrida fue optimizado con lo que en total el tiempo de análisis resulto ser bastante corto.

En relación a la validación del método, mediante la cual se comprobó la aptitud de este para cuantificar específicamente el clorhidrato de propafenona cabe resaltar los resultados obtenidos en los siguientes aspectos.

ESPECIFICIDAD DEL METODO

Dado que el método está destinado a ser utilizado para la cuantificación del clorhidrato de propafenona, durante un estudio de estabilidad, se requiere que sea lo suficientemente específico para realizar dicha cuantificación sin la interferencia de productos de degradación del principio activo o de los excipientes de la formulación. Para comprobar que la técnica desarrollada cumplía con este requerimiento, se analizaron muestras degradadas del placebo, del producto y finalmente del clorhidrato de

propafenona materia prima. Las muestras analizadas y las condiciones de degradación se especifican en el reporte de validación, así como se muestra también un cromatograma obtenido de una muestra degradada bajo condiciones alcalinas, en donde se puede observar que los productos de degradación están adecuadamente separados del pico correspondiente al clorhidrato de propafenona.

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100 %

La exactitud y repetibilidad de un método analítico son de gran importancia, por lo que desde la fase de diseño de la técnica es necesario tomar en cuenta todos los factores que pudieran afectar estos parámetros. Así en el caso de métodos cromatográficos, para lograr buenos resultados en este aspecto, es necesario tener una técnica de preparación de la muestra adecuada, a fin de que la concentración del analito en la solución a inyectar este correlacionada directamente con la cantidad del fármaco en el medicamento

Por otra parte es necesario determinar el volumen y concentración de la solución a inyectar con objeto de que la cantidad de analito inyectado, sea lo suficientemente grande para que el nivel de ruido de la línea base no tenga un efecto significativo sobre el resultado analítico y que no sea demasiado elevada que pudiera

originar un comportamiento no lineal en la detección, además de evitar posibles problemas debidos a saturación de la columna o daño a esta. En relación al volumen de inyección si este es muy elevado, puede originar la formación de picos muy anchos que introducen un error en la determinación del area por el aparato y por otra parte volúmenes de inyección demasiado pequeños introducen una elevada variación porcentual del volumen de inyección.

Para lograr que el método fuera exacto y lo mas repetible posible, se optimizaron los aspectos anteriores, esto tuvo como consecuencia los siguientes resultados:

Para la exactitud y repetibilidad del método al 100%, $\bar{C}_x = 99.97\%$, $DE = 1.93$, $CV = 1.93\%$, $IC = 97.94$ a 102.0% , estos resultados cumplen con los requisitos mínimos para la validación de métodos analíticos,³³ ($98 < \bar{x} < 102$, $CV \leq 2\%$), así como con los criterios propuestos por Fontani³⁴ y Debesis³⁵ ($CV \leq 6.7\%$), el criterio de exactitud al 100 % de Fontani³⁴ (prueba de t o intervalo de confianza), así como el criterio de exactitud propuesto por Debesis³⁵ y Ficarro³⁶ que indica que en el intervalo del porciento teórico $\pm 4s$ debe localizarse el promedio del porciento recuperado. (límites 92.28 a 107.72) ya que todos los porcentos recuperados en el estudio, caen dentro de dichos límites, el método desarrollado cumple con este criterio.

LINEARIDAD DEL METODO

Dado que el método fue diseñado para utilizarse en un estudio de estabilidad, se utilizó un amplio intervalo para la linealidad del método, el cual comprendió del 50 al 150 % de la cantidad teorica.

Los resultados satisfacen los requisitos mínimos para la validación de métodos analíticos³³ y además cumplen con los criterios recomendados por Vanderwielen³⁸, que indican que ningún valor de porcentaje recuperado deberá diferir en mas de un 5%, que a ningún nivel deberá presentarse una diferencia significativa superior al 1.5% y que el coeficiente de correlación deberá ser superior a 0.95.

Por otra parte, con el objetivo de determinar si los valores encontrados para la pendiente y el intercepto difieren significativamente de 1 y 0, se calcularon los intervalos de confianza a un nivel de significancia del 90 % para cada uno, obteniendo los siguientes intervalos³⁹:

Intervalo de confianza para la pendiente: 0.976 a 1.013

Intervalo de confianza para el intercepto: -0.718 a 0.889

Con lo que se puede decir que la pendiente encontrada no difiere significativamente de 1, y que el intercepto encontrado no difiere significativamente de cero.

REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

Se realizó este estudio de acuerdo a el criterio establecido por los requisistos mínimos para la validación de métodos analíticos, encontrando un valor para el coeficiente de variación total de 1.58 %, que al compararlo con el límite establecido de 2% se comprueba que el método es lo suficientemente reproducible, además de este cálculo, se realizó el análisis de varianza para determinar las fuentes de variación, encontrando que ni el factor día ni el factor analista, influyen significativamente en el resultado analítico, con los resultados del análisis de varianza se calculó la reproducibilidad del método, que resultó ser de 1.33%.

CONCLUSIONES

El presente trabajo de tesis se puede ver dividido en tres partes, en la primera se realizó una recopilación bibliográfica, sobre la farmacología general de los fármacos antiarrítmicos, con lo que se pretende auxiliar a los estudiantes de farmacología de la Facultad de Química. En estos capítulos se describe la electrofisiología normal del corazón así como de los trastornos electrofisiológicos que dan lugar a las arritmias cardíacas y los principales fármacos antiarrítmicos. El texto ha sido redactado con la intención de lograr una fácil comprensión sin disminuir la profundidad y nivel de los temas presentados.

En la segunda parte se realizó una investigación bibliográfica de las propiedades farmacológicas del clorhidrato de propafenona a partir de la cual se puede concluir que este es un fármaco que brinda grandes ventajas terapéuticas, entre las cuales cabe destacar su eficacia en el tratamiento de arritmias ventriculares que no han podido ser tratadas eficazmente con los antiarrítmicos tradicionales, y su eficacia en el tratamiento de arritmias

CONCLUSIONES

causadas por el síndrome de Wolff-Parkinson-White. Pero por otra parte el clorhidrato de propafenona puede causar una variedad de efectos adversos, algunos de los cuales han sido relacionados con la concentración plasmática del fármaco y con la dosis. Esto hace de suma importancia que el médico conozca perfectamente las propiedades de este fármaco antes de prescribirlo, y por otra parte, que los distintos productos en el mercado que contengan este fármaco, sean bioequivalentes.

La tercera parte de este trabajo consistió en la parte experimental durante la cual se desarrolló y validó un método analítico adecuado para la cuantificación del clorhidrato de propafenona como parte del control de calidad del producto, y otro método destinado a la cuantificación del clorhidrato de propafenona durante un estudio de estabilidad.

Las técnicas desarrolladas presentaron las características de sencillez, rapidez y bajo costo, mismas que fueron planteadas como objetivos al inicio del trabajo, además de la exigencia de que fueran lo suficientemente específicas, exactas y precisas tomando en cuenta el uso al cual están destinadas. Cabe señalar que el desarrollo de estas técnicas constituye un aporte importante debido a que en la actualidad no se encuentran métodos reportados para el análisis de este fármaco en los libros oficiales.

Aunado a esto se realizó una comparación estadística de los dos métodos desarrollados encontrando que no existe diferencia significativa en la exactitud y linealidad del método, pero que sin embargo se presentó una diferencia significativa en la reproducibilidad siendo mas reproducible el método diseñado para el control de calidad, esto sin embargo en la práctica no es de mayor importancia, debido a que en realidad los dos métodos tienen una buena reproducibilidad, de hecho, fué la pequeña variabilidad del método espectrofotométrico, la causa de que se detectara una diferencia estadísticamente significativa.

BIBLIOGRAFIA

1. Katsung B.G. *Farmacología Básica y Clínica*, 3^a ed Manual Moderno 1987 Pags. 157-178
2. Bigger J.T., Hoffman B.F. *Drogas Antiarrítmicas* en: Goodman y Gilman. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 7th ed, Panamericana 1989 Pags. 713-748
3. Bowman W.C., Rand M.J. *FARMACOLOGIA Bases Bioquímicas y Patológicas*. Segunda edición. Interamericana 1984.
4. Siddoway L.A., Roden D.M., Woosley R.L. Clinical Pharmacology of Propafenone: Pharmacokinetics, metabolism and concentration-response relations. *Am J Cardiol* 1984;54:9D-12D
5. Hollmann M, Hege H.G, Brode E, Buhler V, Hotz D, Kaumeler S, Kehrhahn O.H, Lietz H, Schwarz J.A, Stieren B, Weymann J. Pharmacokinetic and metabolic studies of propafenone in volunteers. In: Schlepfer M, Olsson B, eds. *Cardiac Arrhythmias: Proceedings of the First International Rytmonorm Congress*. New York: Springer-Verlag, 1983:125-132. *
6. Hollmann M, Brode E, Holtz D, Kaumeler S, Kehrhahn O.H. Investigations on the pharmacokinetics of propafenone in man. *Arzneimittel-Forschung* 1983;33:763-770. *

7. Keller K, Meyer-Estorf G, Beck O.A, Hochrein H. Correlation between serum concentration and pharmacological effect on atrioventricular conduction time of the antiarrhythmic drug propafenone. *Eur J Clin Pharmacol* 1978;13:17-20. *
8. Sempel L, Bretthardt G: Propafenone: a new antiarrhythmic drug. *Eur Heart J* 1980;1:309-313. *
9. Blanke H, Aschbrenner B, Karsch K.R, Kreuzer H. Plasma level and effectiveness of propafenone and its organ distribution (Ger). *Dtsch Med Wochenschr* 1979;104:587-589. *
10. Connolly S.J, Kates R.E, Lebsack C.S, Harrison D.C, Winkle R.A. Clinical pharmacology of propafenone. *Circulation* 1983;68:589-596. *
11. Salerno D.M, Granrud G, Sharkey P, Asinger R, Hodges M. A controlled trial of propafenone for treatment of frequent and repetitive ventricular premature complexes. *Am J Cardiol* 1984;53:77-83.
12. Siddoway L.A, Wang T, Bergstrand R.H, Roden D.M, Wonsley R.L. Polymorphic oxidative metabolism of propafenone in man (abstr). *Circulation* 1983;68(suppl III):III-64. *
13. Walle T, Fagan T.C, Couradi E.C, Walle U.K, Gaffney T.E. Presystemic and systemic glucuronidation of propranolol. *Clin Pharmacol Ther* 1982;26:167-172. *

14. Walle T, Walle K. Stereoselective oral bioavailability of (\pm)-propranolol in the dog. A GC-MS study using a stable isotope technique. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1979;23:453-464. *
15. Hodges M, Salerno D, Granrud G., Double-blind placebo-controlled evaluation of propafenone in suppressing ventricular ectopic activity. *Am J Cardiol* 1984;54:45D-50D.
16. Meyer-Estorf G, Keller K, Beck O.A, Hochrein H. Serum concentration and AV conduction time in oral treatment with propafenone during several-days period. *Z Kardiol* 1980;69:417-420. *
17. Meyer-Estorf G, Keller K, Bec O.A, Hochrein H. Antiarrhythmic effect of propafenone in relation to serum concentration and conduction time (Ger). *Z Kardiol* 1978;67:352-356. *
18. Connolly S.J, Dales R.E, Lebsak C.S, Echt D.S, Mason J.W, Winkle R.A. Clinical efficacy and electrophysiology of oral propafenone for ventricular tachycardia. *Am J Cardiol* 1983;52:1208-1213.
19. Kulbertus H.E, Electrophysiological effects of propafenone studied with programmed electrical stimulation of the heart in patients with recurrent paroxysmal supraventricular tachycardia. *Eur Heart J* 1981;2:345-352. *
20. Chilson D.A, Zipes D.P, Heger J.J, Browne K.F, Lloyd E.A, Prystowsky E.N, Propafenone: clinical and electrophysiological effects in patients with ventricular tachycardia (abstr). *Clin Res* 1982;30:706A. *

21. McLend A.A, Stiles G.I, Shand D.G. Demonstration of beta-adrenoceptor blockade by propafenone hydrochloride: clinical pharmacologic, radiological binding and adenylyate cyclase activation studies. *Clin Pharmacol Ther* 1984;228:461-466. *
22. Podrid P.J, Cytryn R, Lown B., Propafenone: Noninvasive evaluation of efficacy. *Am J Cardiol* 1984;54:53D-59D.
23. Coumel P, Leclercq J.F, Assayag P., European experience with the antiarrhythmic efficacy of propafenone for supraventricular and ventricular arrhythmias. *Am J Cardiol* 1984;54:60D-66D.
24. Muller-Peltzer H, Greger G, Neugebauer G, Hoffmann M. Beta-blocking and electrophysiologic effects of propafenone in volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1983;25:831-833. *
25. Von Philipsborn G, Gries J, Kretschmar R. Antiarrhythmic and β -sympatholytic effects of the new antiarrhythmic propafenone and its main metabolite 5-hydroxy-propafenone (abstr). *Second World Conference on Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1983:103. *
26. Kohlhardt M. Block of sodium currents by antiarrhythmic agents: analysis of the electrophysiologic effects of propafenone in heart muscle. *Am J Cardiol* 1984;54:13D-19D.
27. Martindale. *The Extra Pharmacopoeia*, Prepared by editorial staff of the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain and edited by Dr. James E.F. Reynolds. 29th edition.

28. Naccarella F., Bracchetti D., Palmieri M., Marchesini B., Ambrosioni E. Propafenone for refractory ventricular arrhythmias: correlation with plasma levels during long-term treatment. *Am J Cardiol* 1984;54:1008-10014.
29. Prystowsky E.N., Heger J.J., Chilson D.A., Miles W.M., Hubbard J., Zipes D.P. Antiarrhythmic and electrophysiologic effects of oral propafenone. *Am J Cardiol* 1984;54:26D-28D.
30. Latini R., Sica A., Marchi S., Chen Z.M., Gavinelli M., Benfenati E., High-performance liquid chromatographic separation and mass spectrometric identification of propafenone, 5-hydroxypropafenone and N-depropylpropafenone. *Journal of Chromatography*, 424 (1988) 211-214. *Biomedical Applications*.
31. Kates R.E., Yee Y.G., Winkle R.A., *Clin. Pharmacol. Ther.*, 37(1985) 610. *
32. Brode E., Kripp U., Hollmann M., *Arzneim-Forsch.*, 34 (1984) 1455. *
33. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C. Comité de validación de métodos analíticos. *Requisitos mínimos para la validación de métodos analíticos*. México 1991
34. Fontani F., Prelini R., Ronchi M.C., Zanotti A. Criteri di convalida dei metodi d'analisi. *Relazione presentata al Convegno "Qualità delle procedure di controllo dei farmaci e loro convalida"* Milano Italia, Noviembre 1986.

35. Debesis E., Boehlert J., Givand T., Sheridan J. Submitting HPLC methods to the compendia and regulatory agencies. *Pharmaceutical Technology* September 1982.
36. Ficarro S.M., Shah K.A. Validation of high-performance liquid chromatography and gas chromatography assays. *Pharmaceutical Manufacturing* Sept. 1984.
37. HPLC Committee, STIMULI TO THE REVISION PROCESS Guidelines for the analytical validation of HPLC methods.
38. Vanderwielen A.J., Hardwidge E.A. Guidelines for assay validation. *Pharmaceutical Technology* March 1982.
39. Ramette R.W. *Equilibrio y análisis químico*. Fondo Educativo Interamericano. USA 1983. Cap. 3 Limitaciones de las mediciones experimentales.
40. THE MERCK INDEX, Martha Windolz Editor, Tenth edition, Merck and Co. Inc. USA 1983
41. BRITISH PHARMACOPOEIA 1988. Her Majesty's Stationery Office, London 1988, Volume II, Appendix VIII-A page A113.

* Referencias no consultadas directamente.