

00563
/
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTUDIOS ACERCA DE LA BIOEQUIVALENCIA DE PRODUCTOS
FARMACEUTICOS DE NITROFURANTOINA EN EL MERCADO
NACIONAL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN FARMACIA
(BIOFARMACIA)

PRESENTA:

ARTURO LOPEZ ANAYA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D.F.

1980.



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.

TABLA DE CONTENIDO

	PAGINAS
AGRADECIMIENTOS	i
CONTENIDO	iii
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABLAS	xv
LISTA DE APENDICES	xix
CAPITULO	
I. INTRODUCCION	1
1.1 Presentación y objetivo	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1 Biodisponibilidad de Nitrofurantoína	4
2.2 Reglamentación de la biodisponibi- lidad	8
2.3 Significado clínico de los estudios de bioequivalencia de Nitrofurantoína	11
2.4 Análisis del potencial de los Pro- ductos de Nitrofurantoína para pre- sentar problemas de biodisponibili- dad de acuerdo a los criterios de la F.D.A.	12
III. PARTE EXPERIMENTAL	18

TABLA DE CONTENIDO
(CONTINUACION)

	PAGINAS
3.1 Control Farmacéutico (contenido, variación de contenido, variación de peso, desintegración, dureza)	18
3.2 Estudios in vitro: perfil de disolución de nueve productos de Nitrofurantoína	19
3.2.1 Determinación cuantitativa de Nitrofurantoína en solución reguladora de fosfatos 0.2 M, pH 7.2	19
3.2.1.1 Instrumentos	20
3.2.1.2 Reactivos	20
3.2.1.3 Método	22
3.2.1.4 Linealidad y repetibilidad	22
3.2.1.5 Reproducibilidad	22
3.2.1.6 Mínima concentración detectable e intervalo de concentración de máxima precisión	23
3.2.2 Perfil de disolución de nueve productos de Nitrofurantoína	23

TABLA DE CONTENIDO
(CONTINUACION)

	PAGINAS
3.2.2.1 Instrumentos	25
3.2.2.2 Reactivos	25
3.2.2.3 Método	25
3.3 Estudios <u>in vivo</u> : biodisponibilidad de Nitrofurantoína en humanos	26
3.3.1 Determinación cuantitativa de Nitrofurantoína en orina	26
3.3.1.1 Instrumentos	26
3.3.1.2 Reactivos	26
3.3.1.3 Factores que influyen en el método nitro- metano-hiamina (efec- to de la concentra-- ción de KOH, cantidad de hiamina, agente acidificante y volu- men extractor)	27
3.3.1.4 Repetibilidad del mé- todo	32
3.3.1.5 Reproducibilidad del método	33
3.3.1.6 Linealidad, interva-	

TABLA DE CONTENIDO

(CONTINUACION)

	PAGINAS
lo de concentración máxima precisión y recobro	
3.3.2 Determinación de Nitrofuran- toína en sangre	34
3.3.2.1 Equipo y reactivos	34
3.3.2.2 Método	34
3.3.3 Estudios preliminares de bio- disponibilidad	
3.3.3.1 Administración intra- venosa	36
3.3.3.2 Administración oral de una solución acuosa	37
3.3.3.3 Administración oral del producto innova- dor	39
3.3.3.4 Estudio cruzado com- pleto de dos vías producto innovador contra un producto del mercado nacional	40

TABLA DE CONTENIDO
(CONTINUACION)

	PAGINAS
3.3.3.5 Bioequivalencia de seis productos	42
IV. RESULTADOS	44
4.1 Pruebas de control	44
4.2 Determinación de Nitrofurantoína en solución reguladora de fosfatos 0.2 M, pH 7.2	47
4.2.1 Linealidad y repetibilidad	47
4.2.2 Reproducibilidad	47
4.2.3 Mínima concentración detec- table	53
4.2.4 Intervalo de concentración de máxima precisión	53
4.3 Perfil de disolución de nueve pro- ductos de Nitrofurantoína	58
4.4 Estudios <u>in vivo</u> : biodisponibili- dad de Nitrofurantoína en humanos	60
4.4.1 Determinación de Nitrofuran- toína en orina	61
4.4.1.1 Efecto de la concen- tración de hidróxido	

TABLA DE CONTENIDO
(CONTINUACION)

	PAGINAS
de potasio sobre el método nitrometano- hiamina	60
4.4.1.2 Efecto del agente acidificante en la repetibilidad del método nitrometano- hiamina	60
4.4.1.3 Efecto de la canti- dad de hiamina sobre la linealidad del mé- todo nitrometano-hia- mina	65
4.4.1.4 Efecto de la cantidad de disolvente extrac- tor sobre la sensibi- lidad del método ni- trometano-hiamina	65
4.4.2 Repetibilidad y reproducibi- lidad del método nitrometano- hiamina en orina	71
4.4.3 Linealidad, recobro e interva- lo de concentraciones de má- xima precisión del método ni-	

TABLA DE CONTENIDO
(CONTINUACION)

	PAGINAS
trometano-hiamina en orina	75
4.4.4 Determinación de Nitrofurantoina en sangre	79
4.4.5 Estudios preliminares de bio disponibilidad a partir de datos urinarios	82
4.4.5.1 Administración intravenosa	82
4.4.5.2 Administración oral de una solución acuosa de Nitrofurantoina	86
4.4.5.3 Administración del producto innovador	89
4.4.5.4 Estudio cruzado de dos vías producto innovador contra producto D	95
4.4.5.5 Bioequivalencia de seis productos	98
V. DISCUSION	112
5.1 Pruebas de control	112

TABLA DE CONTENIDO
(CONTINUACION)

	PAGINAS
5.2 Estudios <u>in vitro</u>	114
5.2.1 Determinación de Nitrofurantoína en solución reguladora de fosfatos 0.2 M, pH 7.2	114
5.2.1 Perfil de disolución de nueve productos de Nitrofurantoína	117
5.3 Estudios <u>in vivo</u>	128
5.3.1 Determinación de Nitrofurantoína en orina	128
5.3.2 Determinación de Nitrofurantoína en sangre	132
5.3.3 Estudios preliminares de bio-disponibilidad y bioequivalencia de Nitrofurantoína	133
5.4 Correlación <u>in vitro</u> - <u>in vivo</u>	156
VI. CONCLUSIONES	163
VII. BIBLIOGRAFIA	193

F I G U R A S

- 1) Curva patrón promedio en solución reguladora de fosfatos (SRF) para Nitrofurantoína 48
- 2) Representación de Ringbom para el método espectrofotométrico de Nitrofurantoína en SRF⁻ 59
- 3) Gráfica de la cantidad disuelta de Nitrofurantoína contra tiempo a partir de nueve productos comerciales de Nitrofurantoína 63
- 4) Gráfica de la relación molar de NTF/hiamina contra absorbancia 69
- 5) Representación de Ringbom, intervalo de concentración óptimo para el método nitrometanoniamina (70-100 mcg/ml) 76
- 6) Gráfica de la velocidad de excreción contra tiempo medio (t_{mid}) después de una administración I.V. de 50 mg de Nitrofurantoína a un voluntario sano 85
- 7) Gráfica de la cantidad acumulativa excretada contra tiempo después de una administración I.V. de 50 mg de Nitrofurantoína a un voluntario sano 87
- 8) Promedio y desviación estandar de la cantidad acumulativa excretada, después de la administración oral de una solución de Nitrofurantoína ($n = 3$) 90
- 9) Gráfica del logaritmo de la velocidad de excreción contra tiempo después de la administración oral de 100 mg de Nitrofurantoína en solución acuosa a 3 voluntarios sanos 91
- 10) Gráfica del porcentaje remanente para ser excretado contra tiempo después de la administración oral de una solución de 100 mg/ 100 ml de Nitrofurantoína a tres voluntarios 92
- 11) Gráfica de la cantidad acumulativa excretada promedio contra tiempo de 0 a 24 h en seis voluntarios después de la administración P.O. del producto innovador ($D = 100$ mg) 94

- | | | |
|-----|--|-----|
| 12) | Gráfica del logaritmo de la velocidad de excreción promedio después de la administración oral del producto innovador a 6 voluntarios | 96 |
| 13) | Gráfica del logaritmo del porcentaje de Nitrofurantoína para ser excretado, después de la administración oral de Furadantin ^R (Producto Innovador) a 6 voluntarios sanos (D = 100 mg) | 97 |
| 14) | Velocidad de excreción promedio contra t _{mid} en cuatro voluntarios, Producto Innovador contra Producto "D" | 101 |
| 15) | Gráfica de la cantidad acumulativa excretada de Nitrofurantoína contra tiempo de 0 a 10 h (+ S) después de la administración del Producto Nacional "D" y el Innovador (Furadantin ^R) | 102 |
| 16) | Gráfica del logaritmo del porcentaje remanente para ser excretado contra tiempo, Producto Innovador contra Producto "D" | 103 |
| 17) | Gráfica de la velocidad de excreción promedio vs t _{mid} en 6 voluntarios. Bioequivalencia de seis productos de Nitrofurantoína | 106 |
| 18) | Gráfica del porcentaje remanente para ser excretado contra tiempo. Bioequivalencia de seis productos | 107 |
| 19) | Gráfica de la cantidad acumulativa excretada de Nitrofurantoína después de la administración oral de 6 productos de Nitrofurantoína (n = 6) | 110 |
| 20) | Histograma de la concentración media urinaria en 6 voluntarios para seis productos de Nitrofurantoína | 111 |
| 21) | Cantidad remanente para disolverse de los nueve productos de Nitrofurantoína | 120 |
| 22) | Representación log-normal de los datos de disolución de los productos comerciales de Nitrofurantoína | 122 |
| 23) | Gráfica de la velocidad de excreción urinaria contra t _{mid} de cada voluntarios después de la administración oral de una solución acuosa de 100 mg/ 100 ml de Nitrofurantoína | 137 |

- 24) Gráfica del porcentaje remanente para ser excretado contra tiempo de cada voluntarios después de la administración oral de una solución acuosa de 100 mg/100 ml de Nitrofurantoína 138
- 25) Histograma de la concentración media urinaria de los productos Innovador y "D" 143
- 26) Correlación lineal entre la cantidad acumulativa excretada después de 1 h contra la constante de velocidad de disolución (método de la USP. XIX) para seis productos comerciales de Nitrofurantoína 159
- 27) Correlación lineal entre la velocidad de excreción a 0.25 h después de la administración contra el logaritmo de la constante de disolución para seis productos comerciales de Nitrofurantoína 160
- 28) Correlación de la cantidad media acumulativa disuelta en 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 30.0 y 45.0 min contra la cantidad acumulativa excretada a 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 y 4.5 h después de la administración oral 162

T A B L A S

I.	Medicamentos de Nitrofurantoína estudiados	21
II.	Número de determinaciones realizadas para determinar la reproducibilidad del método espectrofotométrico de Nitrofurantoína en solución reguladora de fosfatos (SRF)	24
III.	Diseño cruzado de Dos Vías para el estudio de biodisponibilidad del producto innovador contra el producto "D"	41
IV.	Diseño de cuadrado latino para el estudio de biodisponibilidad de seis productos	43
V.	Determinación del control de calidad para productos comerciales de 100 mg de Nitrofurantoína	45
VI.	Repetibilidad de la determinación de Nitrofurantoína en SRF	49
VII.	Parámetros del análisis de regresión lineal por el método de mínimos cuadrados de las cinco curvas patrón de Nitrofurantoína en Solución Reguladora de Fosfatos 0.2 M, pH 7.2	50
VIII.	Absorbancias de las curvas patrón de Nitrofurantoína en SRF en diferentes días	51
IX.	Coefficiente de variación diario en la determinación espectrofotométrica de Nitrofurantoína en SRF	54
X.	Análisis por mínimos cuadrados de curvas patrón de Nitrofurantoína en SRF preparadas en diferentes días	55
XI.	Mínima concentración detectable por el método espectrofotométrico para la NTF en solución reguladora de fosfatos 0.2 M, pH 7.2	56
XII.	Intervalo de concentración de máxima precisión para la determinación de NTF en SRF	57
XIII.	Resultados del estudio del perfil de disolución de Nitrofurantoína a partir de nueve diferentes productos comerciales	61

XIV.	Efecto de la concentración de hidróxido de potasio sobre el método de nitrometano-hiamina	64
XV.	Efecto del agente acidificante en la determinación de NTF en orina, por el método espectrofotométrico nitrometano-hiamina	66
XVI.	Efecto de la cantidad de hiamina sobre la linealidad del método nitrometano-hiamina	67
XVII.	Relación molar de NTF/hiamina contra absorban- cia	68
XVIII.	Efecto de la cantidad de disolvente extractor sobre el método nitrometano-hiamina	70
XIX.	Parámetros estadísticos de la regresión lineal de las curvas patrón para el efecto de la cantidad de disolvente extractor	72
XX.	Repetibilidad del método nitrometano-hiamina	73
XXI.	Reproducibilidad del método nitrometano-hiamina curvas patrón en orina en diferentes días	74
XXII.	Determinación del intervalo de concentración óptimo para el método nitrometano-hiamina en orina	77
XXIII.	Curvas patrón para calcular el porcentaje de recuperación	78
XXIV.	Análisis estadístico de regresión lineal por mínimos cuadrados de las curvas patrón analizadas por el método nitrometano-hiamina	80
XXV.	Porcentaje de recuperación del método nitrometano-hiamina	81
XXVI.	Determinación de Nitrofurantoina en sangre	83
XXVII.	Cantidad de Nitrofurantoina excretada en orina después de la administración I.V. de 50 mg a un voluntario sano	84
XXVIII.	Promedio de datos urinarios después de la administración oral de 100 mg de NTF en solución acuosa	88

XXIX.	Promedio de datos urinarios después de la administración oral de Furadantin a seis voluntarios	93
XXX.	Valores promedio de la excreción urinaria de NTF a partir de la administración del producto D en cuatro voluntarios sanos (estudio 2 x 2)	99
XXXI.	Valores promedio de excreción urinaria de NTF a partir de la administración del producto innovador en 4 voluntarios sanos (estudio 2 x 2)	100
XXXII.	Parámetros promedio obtenidos de la fase logarítmica lineal (sigma menos) y por el método de los residuos después de la administración oral del producto innovador y del producto D	104
XXXIII.	Parámetros obtenidos de la fase logarítmico lineal del por ciento remanente para ser excretado y por el método de los residuos a partir del promedio de los datos de cada producto en la Bioequivalencia de seis productos	108
XXXIV.	Parámetros obtenidos de la fase logarítmica lineal de velocidad de excreción y aplicación del método de los residuos a partir del promedio de los datos de cada producto, bioequivalencia de seis productos	109
XXXV.	Reproducibilidad del método espectrofotométrico de Nitrofurantoína en SRF en el intervalo de concentración de 1 a 25 mcg/ml	115
XXXVI.	Mínima de concentración detectable de Nitrofurantoína en SRF por el método espectrofotométrico	118
XXXVII.	Constantes de disolución de los 9 productos de Nitrofurantoína	121
XXXVIII.	Tiempos necesarios para disolverse el 10, 25, 50 y 75 por ciento de los 9 productos de NTF	124
XXXIX.	Análisis de varianza de una vía para la cantidad disuelta a los 60 min	125
XL.	Análisis de varianza de una vía para la cantidad disuelta a los 150 min	126

XL I.	Orden de los productos en términos de porcentaje disuelto a los 150 y 60 min por prueba de t bilateral	127
XLII.	Evaluación del agente acidificante para la <u>ex</u> tracción de Nitrofurantoína	130
XLIII.	Parámetros cinéticos obtenidos de la fse logarítmico lineal y por el método de los residuos a partir de los datos urinarios después de la administración oral de una solución acuosa de Nitrofurantoína	135
XLIV.	Aplicación del método de los residuos a los datos urinarios individuales después de la administración oral de una solución acuosa de Nitrofurantoína	139
XLV.	Análisis de varianza para el estudio cruzado de dos vías para la cantidad acumulativa excretada a las 10 h.	146
XLVI.	Análisis de varianza para el estudio de dos vías para la duración de la concentración en orina de 30 mcg/ml	149
XLVII.	Análisis de varianza para el estudio de dos vías para la duración de la concentración en orina de 75 mcg/ml	150
XLVIII.	Parámetros obtenidos de la fase logarítmico lineal de velocidad de excreción y por el <u>mé</u> todo de los residuos a partir del promedio de los datos para el producto innovador y el producto D	152
XLIX.	Análisis de varianza de la cantidad acumulativa excretada a las 10 h para el cuadrado latino de 6 por 6	155
L.	Correlación <u>In vitro</u> - <u>In vivo</u> para seis productos comerciales de Nitrofurantoína	158

A P E N D I C E

I.	Contraindicaciones, precauciones y reacciones adversas a la Nitrofurantoina en humanos	170
II.	Carta de aceptación	181
III.A	Características de los voluntarios para el estudio de la administración oral de una solución de 100 mg de Nitrofurantoina	182
III.B	Características de los voluntarios para el estudio de la administración oral del producto innovador de Nitrofurantoina	183
III.C	Características de los voluntarios en el estudio de la bioequivalencia del producto innovador contra el producto D	134
III.D	Características de los voluntarios en el estudio de bioequivalencia del producto innovador contra cinco productos nacionales	185
IV.A	Promedio de datos urinarios del producto "D" en el estudio cruzado completo de 6 por 6	196
IV.B	Promedio de los datos urinarios del producto innovador "A" en el estudio cruzado completo de 6 por 6	107
IV.C	Promedio de los datos urinarios del producto "F" en el estudio cruzado completo de 6 por 6	188
IV.D	Promedio de los datos urinarios del producto "B" en el estudio cruzado completo de 6 por 6	189
IV.E	Promedio de los datos urinarios del Producto "I" en el estudio cruzado completo de 6 por 6	190
IV.F	Promedio de los datos urinarios del producto "E" en el estudio cruzado completo de 6 por 6	191
V.	Cálculos de análisis de varianza del estudio de dos vías de la cantidad acumulativa excretada a las 10 h	192

I. INTRODUCCION.

1.1 Presentación y Objetivo.

La eficacia y seguridad de un producto farmacéutico se refiere a su habilidad de liberar la cantidad correcta del fármaco para alcanzar y mantener por un tiempo adecuado concentraciones en el organismo, dentro del intervalo terapéutico.

La Biodisponibilidad* es una medida que puede ser utilizada para evaluar la eficacia y seguridad de un medicamento. La bioequivalencia es una comparación de la biodisponibilidad de dos o más productos farmacéuticos que contienen el mismo principio activo, por lo tanto, los estudios de bioequivalencia proporcionan información acerca de la eficacia y/o toxicidad del medicamento. Los primeros estudios de bioequivalencia se realizaron en Canada en el año de 1971 en 229 medicamentos, de los cuales el 9% eran bioinequivalentes (1). Estudios posteriores de bioequivalencia de medicamentos en el mercado de Estados Unidos de Norteamérica (E.U.A. demostraron que en dicho país existía el mismo problema (5). Sin lugar a dudas, en estos países, la biodisponibilidad comparativa demos--

*Biodisponibilidad es la medida de la cantidad relativa y la velocidad con que el fármaco alcanza la circulación sistémica, después de su administración al organismo (5).

tró, que las determinaciones químicas (contenido, variación de contenido, impurezas, etc.) y fisicoquímicas (de integración, dureza y disolución) por sí solas no eran suficientes para garantizar la eficacia de los medicamentos.

En México no se han realizado aún suficientes estudios de bioequivalencia que informen acerca de las características de biodisponibilidad de los medicamentos en el Mercado Nacional. La Nitrofurantoina (NTF) tiene un potencial elevado para presentar problemas de biodisponibilidad (2). La Administración de Alimentos y Medicamentos de los E.U.A. (F.D.A.) exige a los fabricantes de medicamentos de NTF que comprueben la bioequivalencia de sus productos (5). En México basados en informes personales de problemas de toxicidad y eficacia terapéutica, se realizaron estudios de disolución en medicamentos del mercado nacional que contenían NTF, tanto en lotes de un mismo fabricante como entre los de diferentes fabricantes encontrándose diferencias en el comportamiento de disolución (24).

Existe amplia evidencia en la literatura que la biodisponibilidad y bioequivalencia de la NTF se ve marcadamente afectada por la formulación (39). Puesto que una falta de bioequivalencia de medicamentos comerciales repercute directamente sobre la salud de la población que

los utiliza, en forma de falla terapéutica o como signos de toxicidad y siendo la NTF un fármaco con un elevado potencial para presentar dichos problemas y de uso elevado en el país (42), se realizó un proyecto de investigación con el objetivo siguiente.

Objetivo. Estudiar la biodisponibilidad de Nitrofurantoína (NTF) y bioequivalencia de productos farmacéuticos del comercio nacional que contengan 100 mg de NTF, usando como referencia el producto innovador de los Laboratorios Eaton, E.U.A. (el primer producto de NTF que demostró a la F.D.A. tener características adecuadas de eficacia y seguridad terapéutica). Al mismo tiempo, comparar el comportamiento in vitro de dichos productos y estudiar la correlación existente in vitro-in vivo, este estudio indicará si la prueba de disolución de la USP (XIX ó XX) es un método que pueda predecir diferencias en la biodisponibilidad de la NTF a partir de formas farmacéuticas sólidas. Los estudios mencionados en esta tesis contribuirán al diagnóstico de la situación nacional referente a la bioequivalencia, eficacia y seguridad terapéutica de los productos comerciales que contienen nitrofurantoína, y aportará información que fundamente una mejor elaboración y uso correcto de tales medicamentos.

II. REVISION DE LITERATURA.

2.1 Biodisponibilidad de Nitrofurantoína.

La primera evidencia de que la absorción y la excreción de la NTF puede estar afectada por diferencias en el tamaño de partícula, fué publicada en 1967 (7), partiendo de estudios en rata, perro y en hombre. Basados en datos de excreción urinaria en hombre y en ratas, se estableció que cristales grandes disminuyen la absorción. La recuperación de NTF en orina fué óptima cuando el tamaño de partícula promedio fué de 150 mallas, disminuyendo la emesis y permitiendo una excreción urinaria eficaz. Conclusiones similares han sido documentadas por varios autores (6-8).

Se han informado casos de formulaciones en el comercio de otros países, que producen recobros de NTF en orina que son significativamente menores a los obtenidos con una formulación de referencia (9-11). En Canada, en 1972, se demostró que varias formulaciones de NTF tenían baja biodisponibilidad a pesar de que cumplían con los requisitos de calidad de la USP (23), aunque los tiempos de desintegración de dichas formulaciones fueron muy rápidos. Estos estudios han demostrado el efecto de la formulación en la biodisponibilidad de NTF (12).

McGilveray (9) encontró diferencias significativas en cuanto a la cantidad absorbida y a la velocidad de absorción en base a resultados de estudios con 18 lotes de productos de NTF, de diferentes fabricantes canadienses. Sus datos indican que ciertos lotes mantenían niveles de NTF

en orina menores que los necesarios para una terapia anti**bacteriana** eficaz.

En E.U.A., se probaron 14 productos diferentes encontrándose que 2 de ellos fueron absorbidos en cantidades significativamente menores, además, no se observó correlación alguna entre la biodisponibilidad y las propiedades **in vitro**. En 1976 se demostró otro caso de bioinequivalencia al estudiar 7 productos diferentes y encontrar que había diferencia significativa en la biodisponibilidad de 2 productos, uno de ellos con sólo el 2.3% de NTF excretada en orina (12).

Los intentos realizados, desde 1966 hasta 1977, por correlacionar la prueba de la USP para la velocidad de **disolución** con los datos encontrados **in vivo** fracasaron, con excepción de una publicación italiana en la que los resultados apuntan hacia una correlación de datos **in vivo** con datos de velocidad de disolución en un medio ácido (10). Esta observación concuerda con la sugerencia de Bates et al. (13) de que hasta esa fecha los resultados **in vivo** están más de acuerdo con los que se obtienen con un medio de **disolución** ácido pH 1.12, que los obtenidos con un medio ligeramente alcalino. Recientemente Mendes (39), encontró una correlación entre los resultados **in vitro** (método de la USP XIX) e **in vivo** de formulaciones experimentales y no de productos comerciales como en los estudios anteriores.

Bates et al. (11) partiendo de datos urinarios encontraron que es inadecuado conducir estudios de biodisponibilidad de NTF en humanos en ayunas, lo explica en términos del efecto inhibitor de la comida sobre el vaciamiento gástrico que permite una mayor absorción de NTF y por lo tanto, los recobros en orina de NTF son mayores que cuando se administra sola (3).

Rosenberg (14) hizo estudios de biodisponibilidad en humanos con suspensiones, comprimidos y cápsulas de microcristales de NTF y encontró que por vía oral la absorción y la excreción de NTF es independiente de la dosis, en un rango de 25 a 100 mg. La farmacocinética de la NTF en humanos a partir de datos urinarios se puede describir por un modelo abierto de un compartimiento, con cinética de absorción y eliminación de primer orden (14). Además se observó que la velocidad y la cantidad absorbida se ve marcadamente influenciada por el tipo de forma farmacéutica, el tamaño de partícula contenido en la forma farmacéutica y en otras diferencias en la formulación (14).

La NTF es un fármaco clasificado por la "Conference on Bioavailability of Drugs" con alto potencial para presentar diferencias en su biodisponibilidad (2). En 1975, la Asociación Farmacéutica Americana publicó una monografía de NTF en la cual estipula que, para establecer bioequivalencia serán necesarias las pruebas in vivo, hasta

que se haya desarrollado una prueba in vitro que muestre buena correlación con los resultados in vivo (5).

Numerosos investigadores han estudiado el comportamiento in vitro de productos de NTF como tiempo de desintegración y/o pruebas de disolución (12, 16-18). Algunos de ellos han intentado correlacionar los datos in vitro con los resultados de biodisponibilidad, sin haberlo logrado (12, 16, 18). En cada uno de estos estudios, los investigadores han concluido que los resultados in vitro no reflejan exactamente la biodisponibilidad de los productos de NTF probados (12, 16, 18). Un estudio de Mattok et al. (18), con 19 productos, mostraron que la velocidad y la cantidad absorbida in vivo no concuerda con las predicciones realizadas en base a los estudios in vitro. Meyer et al. (10), con 14 productos, encontraron que algunos productos farmacéuticos mostraron biodisponibilidad baja, aunque pasaban las pruebas in vitro.

Actualmente se considera al sistema in vivo es más adecuado para evaluar los productos de NTF. Los resultados de McGilveray et al. (9), con 18 productos, demostraron diferencias significativas en la biodisponibilidad de algunos productos. Asimismo, dos productos de NTF evaluados in vivo por Rosenberg y Bates (19) fueron menos biodisponibles que el producto innovador. DiSanto et al. (12) probaron in vivo 4 lotes diferentes de productos de NTF del mismo fabricante y encontraron que 2 lotes fueron bio

equivalentes frente al producto innovador y los otros dos no fueron bioequivalentes.

2.2 Reglamentación de la Biodisponibilidad.

La toxicidad de la NTF puede verse afectada por su velocidad de disolución (7). Por este motivo se incluyó en la USP XVIII una especificación para la velocidad de disolución de la NTF en comprimidos, conservando la prueba de desintegración (21). La especificación de la USP XVIII dice "El tiempo necesario para que se disuelva el 60% de la cantidad indicada en el merbete de $C_8H_6N_4O_5$ en comprimidos debe ser mayor de 1 h, usando como medio de disolución solución reguladora 0.2M de fosfatos pH 7.2..." Esta especificación establece que no más del 60% del fármaco debe disolverse dentro de cierto límite de tiempo y parece permitir la disolución y absorción lentas de la NTF, a su vez, estas evitaran las reacciones adversas de NTF, disminuyendo la velocidad de aparición del fármaco en la sangre o su presencia en el conducto gastrointestinal. Se ha observado que productos farmacéuticos de NTF con tiempos de desintegración pequeños y tiempos de disolución grandes dan una biodisponibilidad relativamente pobre (9), dichos comprimidos, habían pasado la prueba de tiempo de desintegración de la USP XVIII, sin embargo, en estos estudios se demostró que la prueba de disolución de la USP XVIII era inapropiada para predecir la biodispo-

nibilidad (18).

Bates (13, 14), analizando la prueba de disolución de la USP XVIII para la NTF, puntualiza que es inconsistente una especificación de velocidad de disolución en comprimidos de NTF y no proporcionar una especificación de velocidad de disolución de suspensiones orales de NTF. En algunos estudios, encontraron que el medio de disolución sugerido por la USP, SRF pH 7.2 era insuficiente para discernir las diferencias de velocidad de disolución dependiendo del tamaño de partícula y de la incidencia de efectos colaterales, y sugirieron que tal vez fuera mejor utilizar un medio ácido para la prueba de disolución (13). En la USP XIX se propuso otro límite para la prueba de disolución cambiando la especificación "Entre el 25% y el 60% de la cantidad indicada en el marbete de $C_8H_6N_4O_5$ en los comprimidos debe disolverse en 1 h, usando como medio de disolución una solución reguladora de fosfatos pH 7.2..." Esta especificación intentaba controlar la velocidad de absorción por medio de la velocidad de disolución lenta pero mayor del 25% en 60 min, con la finalidad de evitar fallas de Biodisponibilidad y problemas de Toxicidad. La F.D.A. ha retirado varios lotes de comprimidos de NTF puestos en el mercado. Dos de estos retiros se debieron a que los comprimidos no pasaban la prueba de desintegración de la USP y un tercero, en 1976, porque los estudios de biodis-

ponibilidad revelaban valores bajos de excreción urinaria de 2.2% y 14.3% comparado con el producto poseedor del NDA (New Drug Application) aprobado, esto es, el producto innovador (22). Sin embargo hasta que no se haya demostrado que la prueba de disolución es adecuada y se correlaciona con los datos in vivo, los fabricantes deberán obtener y proporcionar datos de biodisponibilidad para determinar que la biodisponibilidad de sus productos es adecuada. La especificación de disolución de la USP XX es contraria a la USP XVIII usando el mismo método de disolución (56), esta prueba intenta garantizar buena biodisponibilidad de la NTF pero no trata de evitar los efectos secundarios de toxicidad de la NTF (ver apéndice I).

2.3 Significado Clínico de los Estudios de Bioequivalencia de Nitrofurantoína.

Los estudios citados en este trabajo muestran que las diferencias de Biodisponibilidad entre formulaciones de Nitrofurantoína son distinguibles usando datos de excreción urinaria. Se ha demostrado una excelente correlación entre la efectividad clínica de la Nitrofurantoína y sus concentraciones en orina (7, 27, 28). Se ha reportado la actividad de la NTF frente a una variedad de cepas tanto in vitro como in vivo. Así, el 90% de las cepas de Escherichia coli generalmente se erradican con una concentración de 32 mcg/ml y para cepas resistentes es necesaria una concentración de 75 mcg/

ml (10). Por otro lado, concentraciones de 32 mcg/ml (algunas veces menores) erradicarán microorganismos susceptibles.

Para muchos fármacos es importante mantener una concentración mínima inhibitoria para el control clínico de infecciones urinarias.

Debido a que la NTF es eliminada rápida y completamente del cuerpo en un lapso de 10 a 12 h. después de la administración de la dosis (25, 26), es necesaria la administración de dosis divididas durante un régimen de dosificación, para mantener concentraciones adecuadas de orina.

Clínicamente se ha demostrado que la lenta absorción de la NTF, medida a partir de datos urinarios puede reducir la incidencia de náusea y vómito asociada con la farmacoterapia de NTF. Sin embargo, debe considerarse que no se ha demostrado claramente que tales efectos adversos son resultado de una irritación directa de la mucosa gastrointestinal, o de un efecto controlado sistémicamente por los niveles sanguíneos del fármaco, se ha encontrado náusea después de la administración i.v. (25) y la reducción de la dosis ha aumentado la tolerancia por vía oral de la NTF (26).

2.4 Análisis del Potencial de los Productos de Nitrofurantoina para presentar problemas de Biodispo-

nibilidad e Inequivalencias de acuerdo a los cri
terios de la F.D.A.

En base a una extensa revisión bibliográfica se anali
za el potencial de los productos de Nitrofurantoina para
presentar problemas de biodisponibilidad e inequivalencias,
tomando como guía los cri
terios sugeridos por la F.D.A. (5).

2.4.1 Consideraciones Biofarmacéuticas.

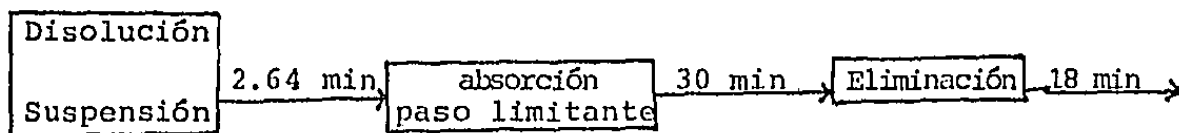
La NTF tiene una baja solubilidad en agua, menor del
0.5% entre pH de 4.8 y 7.0 (0.0124 y 0.0201 por ciento,
respectivamente). Además, el volumen de agua requerido
para disolver la dosis usual de 100 mg y 50 mg de NTF exce
de en alto grado los 100 ml de volumen de agua en el estó
mago, en este volumen se disolverían menos de 10 mg a un
pH de 1-3, equivalente a una décima parte de la dosis u-
sual, la velocidad de disolución se ve notoriamente dismi
nuída cuando se incrementa el tamaño de partícula (6,7).

En la tabla A se presenta la influencia de la formu
lación en la vida media de la NTF; y en la tabla B el efec
to del tamaño de cristal en la constante de la velocidad
de disolución de la NTF respectivamente. Los resultados
de estudios de disolución a pH 1.12 están de acuerdo con
los resultados in vivo ya que la absorción también se ve
disminuída con el incremento del tamaño de cristal (29-31,
7), en cambio, los resultados de disolución a pH 7.2 como
lo señala la prueba de la USP XIX, no muestran diferencias

entre la cápsula macrocristales y los comprimidos microcristales. La absorción de la NTF sigue la teoría pH partición (43), se disuelve preferentemente en pH alcalino, sin embargo, la mayor absorción se lleva a cabo en la parte alta del intestino delgado y muy poco en el estómago (32, 33). La NTF es absorbida en un sitio localizado ("Efecto Ventana") (20), por otro lado, la absorción rectal es pobre (6, 22, 25), y se ha demostrado que el método de mánufactura influye en la biodisponibilidad (34, 36). Con esta información, se puede decir que la NTF tiene consideraciones biofarmacéuticas que limitan su absorción.

2.4.2 Consideraciones Farmacéuticas.

La NTF tiene una velocidad muy alta de eliminación, vida media de 19 min. (37). Su vida media de absorción, calculada a partir de una suspensión, es de 30 min. (30), la velocidad de disolución in vitro de la suspensión es de 2.64 min a pH 7.2 y 12.5 min a pH 1.2 (13). Esto significa que, la absorción es el proceso limitante de la farmacocinética de la NTF, a partir de soluciones o suspensiones. Estos datos se pueden resumir en el siguiente esquema.



Ahora, en el caso de una cápsula comercial de macro--

TABLA A. VIDA MEDIA DE DISOLUCION DE
NTF A PARTIR DE VARIAS FORMAS
FARMACEUTICAS (13).

Forma Farmacéutica	Vida media de disolucion (min)	
	pH 1.12	pH 7.2
Suspensión Acuosa	12.5	2.64
Comprimidos	77.9	167
Cápsulas	212	160

TABLA B. INFLUENCIA DEL TAMAÑO DE PARTICULA DE LA CONSTANTE DE VELOCIDAD DE DISOLUCION DE NTF (36).

Nitrofurantoina pura con diferente tamaño de partícula (micras)	Constante de disolución en $\text{min}^{-1} \times 10^2$
125-149	14.4
177-210	9.45
297-420	3.55

cristales de NTF en que la vida media de disolución aumenta de 160 min a 211 min a pH 7.2 y 1.12 respectivamente (13), la disolución es el proceso limitante de la farmacocinética y por tanto el que determina la biodisponibilidad de la NTF, muy probablemente pruebas de disolución y desintegración apropiadas serían capaces de seleccionar productos farmacéuticos de NTF con características óptimas de biodisponibilidad. Si la NTF se elimina muy rápidamente del organismo, la velocidad y cantidad absorbida determinarán el que se logren concentraciones satisfactorias, consecuentemente, la NTF presenta propiedades farmacocinéticas que hacen que las variables de introducción puedan repercutir en sus características terapéuticas.

2.4.3 Consideraciones Farmacológicas y Toxicológicas.

Las concentraciones de NTF en fluidos biológicos en humanos a los cuales aparecen efectos tóxicos y terapéuticos son similares, los efectos indeseables de la NTF aparecen a concentraciones bajas en sangre, ocurriendo en el 23.6% de los pacientes que recibían una dosis de 7 mg/kg (37). La dosis terapéutica para la NTF es de 4 a 7 mg/kg.

La velocidad de absorción de la NTF debe estar controlada de tal manera que se absorba con una velocidad relativa lenta para evitar los efectos indeseables de la

NTF (como náuseas y vómito); estos efectos indeseables pueden estar relacionados con la concentración sanguínea ya que administraciones intravenosas producen los mismos efectos tóxicos (38, 7). Por otro lado, debe buscarse que la velocidad de absorción sea relativamente rápida para que alcance niveles efectivos en orina, ya que se elimina rápidamente. Cuando el producto farmacéutico de NTF no se desintegra o disuelve puede producir irritación local en el intestino provocando náusea y vómito y ocasionalmente diarrea, dolor abdominal y sangrado (6, 37, 39, 40).

2.4.4 Consideraciones Terapéuticas.

La NTF requiere un nivel constante de concentración de 32 mcg/ml para ser efectiva contra el 90% de las cepas de Escherichia coli, aunque se necesitan niveles de 75 mcg/ml para algunas cepas resistentes (41), un producto que proporcione bajos niveles urinarios sería de poco valor clínico (15).

En resumen en base a consideraciones de tipo biofarmacéutico, farmacocinético, farmacológico, toxicológico y terapéutico, se concluye que los productos farmacéuticos que contienen NTF tienen un potencial elevado para presentar problemas de biodisponibilidad. Esto concuerda con los resultados publicados de falta de bioequivalencia con productos comerciales de NTF (12, 19, 9, 41, 38).

III. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1 Control Farmacéutico.

Los productos farmacéuticos estudiados fueron donados directamente por los laboratorios. Se solicitaron 100 formas de dosificación todas de un mismo lote. Se compraron 100 comprimidos del mismo lote del producto innovador (furadantin) Eaton Laboratories E.U.A., Lote No. 73705 en la ciudad de Tijuana Baja California Norte, todos los medicamentos estudiados contenían 100 mg de Nitrofurantoina como principio activo por unidad de dosificación. En la Tabla I se enlistan los productos farmacéuticos estudiados. A cada medicamento se le asignó una clave, al producto innovador la letra A y otras letras a los medicamentos nacionales.

A los medicamentos se les realizaron las siguientes pruebas de control farmacéutico en el Laboratorio de Farmacia Experimental de la Facultad de Química (U.N.A.M.).

Dureza.

Desintegración. Comprimidos en agua destilada a 37°C USP XIX (23).

Cápsulas - agua destilada a 37°C USP XIX (23).

Grageas - 5 min. sumergidas en agua destilada más de 30 min. con disco, más el tiempo necesario para su desin

tegración en el desintegrador con jugo intestinal a 37°C, con disco.

Variación de

peso

USP XIX (23).

Variación de

Contenido

Se analizaron 3 unidades de dosificación de cada producto B.P. (44).

Contenido

B.P. (44).

3.2 Estudios in vitro perfil de disolución de nueve productos de Nitrofurantoina.

Se determinó el perfil de disolución de nueve productos farmacéuticos comerciales conteniendo solo 100 mg de NTF como principio activo, la prueba de disolución se realizó de acuerdo a la USP XIX (23).

A partir del perfil de disolución se seleccionaron los medicamentos de NTF con velocidades de disolución alta, media y baja esperando encontrar diferencias similares y correspondientes a la biodisponibilidad de los productos (estudios in vivo) y posteriormente establecer una correlación que pudiera ser de utilidad en la predicción del comportamiento in vivo de los medicamentos de NTF con solo la prueba de disolución.

3.2.1 Determinación cuantitativa de Nitrofurantoina en solución reguladora de fosfatos 0.2 M, pH 7.2.

Para determinar la concentración de NTF en el medio de disolución, solución reguladora de fosfatos 0.2 M de pH 7.2 (SRF) se utilizó el método espectrofotométrico en la región ultravioleta a 367 nm (23).

3.2.1.1 Instrumentos.

Espectrofotómetro Varian, modelo 634, Balanza analítica Mettler, modelo H54AR, Balanza granataria Ohaus, modelo Harvard trip, Potenciómetro Corning, Modelo 19, Registrador Ferrand modelo 100, Determinador de punto de fusión Fisher-Johns.

3.2.1.2 Reactivos.

Nitrofurantoína microcristalina anhidra, amablemente donada por los laboratorios Norwich de México (lote Núm. 3528), identificada a partir de su punto de fusión (260-261°C), análisis de infrarrojo (IR) en disco de KBr $\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} (1343, 1435, 1525, 1724, 1785), espectro ultravioleta UV, $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ nm (log): 367 (4.26).

N, N-dimetilformanida, grado reactivo (J.T. Baker).

Fosfato de potasio monobásico 0.2 M: disolver 27.218g de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4), (J.T. Baker) en agua y diluir con agua a 1.0 l.

Solución reguladora de fosfatos 0.2 M de pH 7.2 (SRF): colocar 50 ml de la solución de fosfato de potasio monobásico 0.2 M en un matraz volumétrico de 200 ml, añadir 34.7 ml de una solución de hidróxido de sodio 0.2 M y diluir con agua hasta aforo.

TABLA I. MEDICAMENTOS DE NITROFURANTOINA ESTUDIADOS

NOMBRE	No. DE LOTE	LABORATORIO	FORMA FARMACEUTICA
Furadantin ^R (Innovador)	73705	Eaton Laboratories (E.U.A.)	Comprimido: 100 mg
Ditrozona	12086	Laboratorios Fustery, S.A.	Comprimido: 100 mg
Furabar	17116	Laboratorios Barcimex, S.A.	Grageas: 100 mg
Furadantina	32178	Norwich Pharmacal Co. de México, S.A.	Comprimido: 100 mg
Furdil	101	Laboratorios Schutz- Lourdes de México	Comprimido: 100 mg
Fur-ren	D0265	Laboratorios Queralt Mir, S.A.	Comprimido: 100 mg
Furadex	77	Index de México, S.A.	Comprimido: 100 mg
Macrofantina	51878	Norwich Pharmacal Co. de México, S.A.	Cápsulas: 100 mg
Teguran	03017	Laboratorios Tegur, S.A.	Grageas: 100 mg

3.2.1.3 Método.

En un matraz volumétrico de 100 mg se colocó una cantidad de 10 mg de Nitrofurantoina, se añadió un volumen de 10 ml de N, N-dimetilformamida para disolver la Nitrofurantoina y se diluyó con la SRF hasta el aforo; a partir de esta solución se hicieron diluciones adecuadas para obtener las siguientes concentraciones: 50, 25, 24, 20, 10, 8, 6, 5, 4, 3.2, 2, 1, 0.48, 0.32 y 0.1 mcg/ml. Se determinó la absorbancia de las soluciones directamente en el espectrofotómetro a 367 nm, utilizando SRF como blanco.

3.2.1.4 Linealidad y repetibilidad.

Con el fin de observar si la relación entre las concentraciones de Nitrofurantoina y las absorbancias correspondientes era lineal se determinó las absorbancias de concentraciones conocidas de Nitrofurantoina en SRF. Se obtuvo el promedio de cinco curvas de referencia realizadas al mismo tiempo, con las siguientes concentraciones: 25, 20, 15, 10, 5, 3, 1 y 0.5 mcg/ml.

Con objeto de determinar la repetibilidad del método espectrofotométrico para la determinación de Nitrofurantoina en SRF se determinó el coeficiente de variación para cada una de las concentraciones utilizadas en las cinco curvas patrón mencionadas.

3.2.1.5 Reproducibilidad.

Con el objeto de conocer la variación de la determinación espectrofotométrica de Nitrofurantoina en SRF en condiciones idénticas de operador, aparato, laboratorio, pero en diferentes ocasiones, se hicieron determinaciones de concentraciones conocidas en diferentes días según se muestra en la tabla II mediante el método descrito en 3.2.1.2.

3.2.1.6 Mínima concentración detectable e intervalo de concentración de máxima precisión.

Con el objeto de conocer la mínima concentración que es posible detectar se procedió a determinar por triplicado las absorbancias de concentraciones conocidas y la absorbancia del blanco, ajustando el cero de absorbancia con agua destilada. Las concentraciones utilizadas fueron: 1, 0.48, 0.32 y 0.1 mcg/ml.

Para conocer el intervalo de concentraciones de máxima precisión se determinó por triplicado las absorbancias de concentraciones de: 25, 24, 20, 10, 8, 6, 5, 4, 3.2, 2, 1, 0.48, 0.32 y 0.1 mcg/ml, previo ajuste a cero con agua destilada.

3.2.2 Perfil de disolución de nueve productos farmacéuticos de Nitrofurantoina.

Se realizaron estudios del perfil de disolución de Nitrofurantoina a partir de comprimidos, grageas y cápsulas de 100 mg, incluyendo al producto innovador.

TABLA II. NUMERO DE DETERMINACIONES REALIZADAS PARA LA DETERMINACION DE NITROFURANTOINA EN SRF.

No. de determinaciones	Concentración (mcg/ml)
4	1.0
3	2.0
2	4.0
2	6.0
5	10.0
2	20.0
2	25.0

Este estudio de disolución se realizó con el objeto de caracterizar el perfil de disolución de los productos, comparar su comportamiento con el producto innovador y seleccionar posteriormente los productos farmacéuticos del mercado nacional a estudiar in vivo.

3.2.2.1 Instrumentos.

Los mencionados en 3.2.1.1 más aparato de disolución de canasta de 6 vasos, USP-NF, modelo 72 SL (Hanson Research Corporation).

3.2.2.2 Reactivos

Los mencionados en 3.2.1.2.

3.2.2.3 Método.

Los estudios de disolución se realizaron en 12 unidades de dosificación por lote estudiado siguiendo el método propuesto en la monografía de comprimidos de Nitrofurantoina de la USP XIX (23), donde se especifica que "en una hora se debe disolver entre el 25 y el 60% de la cantidad indicada en el marbete de $C_8H_6N_4O_5$ "; se usa SRF como medio de disolución agitando la cesta a una velocidad de rotación de 100 rpm y a una temperatura de 37°C.

En base a una prueba de disolución previa se seleccionaron las diluciones apropiadas para obtener mayor precisión en las determinaciones de cada producto.

Se tomaron alícuotas de 5 ml. a los siguientes tiempos: 2.5, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 130, 140 y 150 min. El análisis de las muestras se realizó por el método

do espectrofotométrico descrito anteriormente. Para evitar tomar partículas no disueltas se cubrió la punta de la pipeta con papel filtro. Inmediatamente después de tomar la alícuota se reponía el mismo volumen con nueva SRF a 37°C (45).

3.3 Estudios in vivo: biodisponibilidad de Nitrofurantoina en humanos.

Se realizaron estudios de biodisponibilidad con dosis únicas del fármaco en sujetos sanos, en estado de ayuno. Se controló la ingestión de otros fármacos una semana antes del estudio y durante el mismo. Los estudios se condujeron en sujetos ambulantes con una actividad normal. Además, se controló la cantidad y tipo de comida, así como el tiempo de alimentación.

3.3.1 Determinación de Nitrofurantoina en orina.

Para la cuantificación de Nitrofurantoina en orina se utilizó un método colorimétrico, basado en el reportado por Conklin (46).

3.3.1.1 Instrumentos.

Espectrofotómetro Zeiss, modelo PM 2 DL; Centrífuga clínica modelo Dymac TM; Vortex, thermolyne Maxi MixTM; Balanza analítica Mettler, modelo H545R.

3.3.1.2 Reactivos.

Mismos que en 3.2.1.2, además Sulfato de amonio, grado reactivo (J.T. Baker Reactivos y Productos Químicos);

Metanol, grado reactivo (J.T. Baker Reactivos y Productos Químicos); Cloruro de metil-bencetonio (cloruro de p-di-isobutil-cresoxietoxi-etil) dimetil-bencil-amonio), (Sigma Chemical Company); Hidróxido de sodio, grado reactivo (J.R. Baker Reactivos y Productos Químicos).

Solución de hiamina 0.04 M: disolver 18.6g de cloruro de hiamina en una solución 0.08 M de hidróxido de sodio en metanol y diluir con esta misma solución a 1.0 l.

3.3.1.3 Factores que influyen en el método nitrometano-hiamina.

Con el objeto de determinar su efecto en el método descrito por Conklin (46) se estudiaron factores como: concentración de KOH, cantidad del agente complejante y volumen del disolvente extractor.

3.3.1.3.1 Efecto de la concentración de hidróxido de potasio.

Se estudió el efecto producido por cambios de concentración de KOH sobre: la absorbancia y estabilidad de la Nitrofurantoína en solución acuosa (tubos 2 y 3), la absorbancia de la Nitrofurantoína en solución de nitrometano (tubos 4-8), y la absorbancia y estabilidad del complejo nitrofurantoína-hiamina en nitrometano (tubos 9-11).

Se pesaron 10 mg de NTF en una matraz de 100 ml, se disolvieron con 10 ml de N, N-dimetilformamida y se diluyó hasta el aforo con agua destilada; a partir de esta so

lución se hizo una dilución 1:10 para obtener una concentración final de 10 mcg/ml (Solución "A"). Se colocó 1 ml de la solución "A" en cada tubo. Cada experimento se realizó por triplicado.

TUBOS

- 1 Se le determinó la absorbancia y el máximo de absorción de la solución "A" de 367 nm.
- 2 Se añadió 0.1 ml de hidróxido de potasio al 40% en metanol y se determinó su absorbancia a 367 nm.
- 3 Para conocer la estabilidad de la solución del tubo 2 se determinó la absorbancia 30 min después a 367 nm.
- 4 Se añadió 5 ml de nitrometano agregando 0.6 g de sulfato de amonio, se agitó 1 min. en "Vortex", se centrifugó a 2000 rpm por 5 min. y se transfirió 1 ml de la fase orgánica a un tubo limpio. Se determinó la absorbancia de la fase orgánica (Solución "B") a 367 nm.

En los siguientes tubos (5-11) se realizó el mismo procedimiento que para el tubo 4, además de lo indicado a continuación:

- 5 A 1 ml de la solución "B" se le añadió 0.1 ml de hidróxido de potasio al 40% en metanol y se determinó su absorbancia a 367 nm.

- 6 A 1 ml de la solución "B" se le añadió 0.1 ml de solución de hidróxido de potasio al 20% en metanol y se determinó su absorbancia a 367 nm.
- 7 A 1 ml de la solución "B" se le añadió 0.1 ml de solución de hidróxido de potasio al 10% en metanol y se determinó la absorbancia a 367 nm.
- 8 A 1 ml de la solución "B" se le añadió 0.1 ml de solución de hidróxido de potasio al 5% en metanol y se determinó la absorbancia a 367 nm.
- 9 A 1 ml de la solución "B" se añadió 0.1 ml de solución 0.01 M de cloruro de hiamina en hidróxido de potasio al 20% en metanol y se determinó la absorbancia y el máximo de absorbancia a 400 nm.
- 10 A 1 ml de la solución "B" se le añadió 0.1 ml de una solución 0.01 M de cloruro de hiamina en hidróxido de potasio al 10% en metanol y se determinó la absorbancia a 400 nm.
- 11 A 1 ml de la solución "B" se le añadió 0.1 ml de una solución 0.01 M de cloruro de hiamina en hidróxido de potasio al 5% en metanol y se determinó la absorbancia a 400 nm.

3.3.1.3.2 Efecto del agente acidificante en la extracción de la Nitrofurantoina de la fase acuosa.

Con el objeto de seleccionar el agente acidificante más adecuado para extraer la Nitrofurantoina de la fase acuosa, se probaron tres de ellos, entre los cuales se encontraron dos de los anteriormente reportados para este método (47, 48).

a) 1 ml de ácido clorhídrico 0.2 M (46).

b) 0.6 gr de cristales de sulfato de amonio (48).

c) 1 ml de solución saturada de sulfato de amonio (47).

El método usado fué el siguiente:

En un tubo de ensayo con tapón de rosca se colocó: 1 ml de orina, 5 ml de nitrometano y el agente acidificante a evaluar; el contenido del tubo se mezcló vigorosamente en Vortex durante un minuto, se centrifugó a 2000 rpm durante 5 min. Se transfirió 1 ml de la fase orgánica a un tubo de ensayo limpio, al cual se le añadieron 0.5 ml de cloruro de hiamina 0.04 M en KOH 0.04 M en metanol.

Para la evaluación de cada agente acidificante se preparó con anterioridad una curva patrón de Nitrofurantoina en orina. Para la de cristales de sulfato de amonio se prepararon las siguientes concentraciones de NTF en orina: 100, 40, 20, 12, 8, 4, 2 y 0 mcg/ml (cada determinación se hizo por cuadruplicado). Para la del ácido clorhídrico 0.2 M y de la solución saturada de sulfato de amonio

se prepararon las concentraciones siguientes: 100, 50, 25, 10, 5 y 1 mcg/ml (cada determinación se hizo por duplicado).

3.3.1.3.3 Efecto de la cantidad de hiamina sobre la linealidad del método.

Para estudiar la influencia de la concentración y cantidad de hiamina presente en la reacción para formar el complejo nitrofurantoina-hiamina, se modificó la cantidad de hiamina presente en la misma curva patrón de Nitrofurantoina en orina, en un rango de concentraciones de 2 a 100 mcg/ml.

En un tubo con tapón de rosca se transfirió 1 ml de la curva patrón de Nitrofurantoina en orina (0, 2, 4, 8, 12, 20, 40 y 100 mcg/ml), se añadió un volumen de 5 ml de nitrometano y 0.6 g de sulfato de amonio, se agitó en Vortex durante un minuto y se centrifugó a 2000 rpm durante 5 min.; se transfirió 1 ml de la fase orgánica (fase superior) a otro tubo. Cada concentración se manipuló por quintuplicado, posteriormente:

- a) A 1 ml de la fase orgánica se añadió 0.1 ml de una solución 0.01 M de hiamina en 0.16 M de KOH en metanol.
- b) A 1 ml de la fase orgánica se añadió 0.1 ml de una solución 0.04 M de hiamina en 0.16 M de KOH en meta

nol.

- c) A 1 ml de la fase orgánica se añadió 0.5 ml de una solución 0.04 M de hiamina en 0.16 M de KOH en metanol.

3.3.1.3.4 Efecto del volumen del disolvente extractor en el método.

Con objeto de incrementar la sensibilidad y economía del método se hizo una modificación al reportado por Conklin (46), que consistió en cambiar el volumen de 5 ml a 3 ml; el efecto se evaluó mediante una curva patrón de NTF en orina a las siguientes concentraciones: 100, 50, 25, 10, 5, 1 y 0 mcg/ml.

3.3.1.3.5 Método.

En un tubo de ensayo con tapón de rosca se colocó 1 ml de orina, se añadió 3 ó 5 ml de nitrometano y 1 ml de solución saturada de sulfato de amonio. El contenido del tubo se mezcló en Vortex por 1 min. y centrifugó a 2000 rpm por 5 min. Se tomó 1 ml de nitrometano (fase superior) y se transfirió a otro tubo de ensayo, al cual se le añadieron 0.5 ml de la solución de hiamina 0.04 M en una solución 0.04 M de hidróxido de potasio en metanol.

3.3.1.4 Repetibilidad del método.

Con objeto de conocer la variación del método nitrometano-hiamina en orina bajo las mismas condiciones de tiempo, reactivos, operador, instrumentos y laboratorio,

se preparó una curva patrón con las siguientes concentraciones: 100, 50, 25, 10, 1 y 0 mcg/ml. Cada concentración se determinó por cuadruplicado por el método descrito en 3.3.1.3.5.

3.3.1.5 Reproducibilidad del método.

Con objeto de conocer la variación del método para la determinación de Nitrofurantoina en orina, en diversas condiciones de tiempo y reactivo de hiamina (preparado el mismo día del análisis a partir de la misma solución de KOH 0.08 M), se analizaron en 4 días diferentes, curvas patrón de NTF en orina, preparadas el mismo día de la determinación, en condiciones idénticas de operador, instrumentos y laboratorio.

Cada concentración de la curva patrón de Nitrofurantoina en orina (100, 50, 25, 10, 5 y 1 mcg/ml), se analizó por el método descrito en 3.3.1.3.5.

3.3.1.6 Linealidad, intervalo de concentraciones de máxima precisión y recobro.

Para conocer la linealidad y intervalo de concentraciones de máxima precisión del método se preparó una curva patrón de Nitrofurantoina en orina con las siguientes concentraciones: 100, 90, 75, 50, 30, 25, 20, 15, 10, 7, 5, 4, 3, 2, 1 y 0 mcg/ml; cada concentración se determinó por duplicado por método descrito en 3.3.1.3.5.

Se estudió la recuperación de Nitrofurantoina adicionada a la orina y se hizo una curva patrón de Nitrofurantoina en nitrometano con las siguientes concentraciones: 28.1, 11.2, 5.6, 1.12 y 0 mcg/ml, cada concentración se determinó por cuadruplicado. Se tomó 1 ml de cada concentración y se añadió 0.5 ml de solución 0.04 M de hiamina en presencia de 0.08 M de KOH en metanol; se agitó por 30 segundos determinando la absorción a 400 nm; al mismo tiempo se determinó por cuadruplicado la absorbancia de una curva patrón en orina (52.6, 26.3, 10.5, 5.3, 1.0 y 0 mcg/ml), por el método descrito en 3.3.1.3.5.

3.3.2 Determinación de Nitrofurantoina en sangre.

La determinación en sangre se realizó mediante el método espectrofotométrico de N-H reportado por Mattok (48).

3.3.2.1 Equipo y reactivos.

Los descritos en 3.3.1 para la determinación de Nitrofurantoina en orina, excepto centrifuga clínica modelo PL32 y el reactivo de hiamina 0.01 M en KOH 0.01 M en metanol.

3.3.2.2 Método

El método utilizado fué básicamente el descrito por Mattok (48): se preparó (por quintuplicado) una curva patrón de Nitrofurantoina en sangre total de conejo de concentraciones de: 10, 5, 1, 0.5, 0.2 y 0 mcg/ml.

Se colocó 1 ml de sangre con concentración conocida

de Nitrofurantoina en un tubo de ensayo con tapón de rosca; se añadió 0.6 g de sulfato de amonio y 2 ml de nitrometano, se agitó por 1 min. y se centrifugó a 10,000 rpm por 5 min.; se transfirió 1 ml de la fase orgánica a un tubo de ensayo limpio donde se le añadió 0.1 ml de una solución de hiamina 0.01 M en presencia de 0.01 M de KOH en metanol.

3.3.3 Estudios preliminares de biodisponibilidad.

Para establecer la magnitud de la variación en los estudios en humanos y determinar en forma aproximada el número de sujetos necesarios para los estudios de bioequivalencia, se realizaron estudios preliminares de biodisponibilidad con productos de NTF.

Los estudios preliminares realizados tuvieron por objeto estudiar la influencia de la formulación y la vía de administración en la biodisponibilidad de la Nitrofurantoina.

Se seleccionaron voluntarios sanos en base a análisis clínicos de bioquímica sanguínea (glucosa, urea y creatinina); biometría hemática completa (hemoglobina, hematocrito, leucocitos, linfocitos, etc.) y análisis general de orina (densidad pH, glucosa, albúmina y leucocitos) dentro de los parámetros normales.

En cada uno de los estudios de biodisponibilidad de Nitrofurantoina llevados a cabo, se informó a los volun-

tarios sobre las contraindicaciones, precauciones y reacciones adversas de la Nitrofurantoína en humanos (Apéndice I); además, los voluntarios firmaron una carta de aceptación para participar en dichos estudios (Apéndice II).

3.3.3.1 Administración intravenosa.

Bajo estricta vigilancia médica, se administró por vía intravenosa 50 mg de Nitrofurantoína en solución acuosa estéril a un voluntario sano (sexo masculino de 27 años, 70 kg, 1.70 m) con análisis de bioquímica sanguínea (glucosa, urea y creatinina), biometría hemática completa (hemoglobina, hematocrito, leucocitos, linfocitos, etc.) y análisis general de orina (densidad, pH, glucosa, albúmina y leucocitos) dentro de los límites normales.

El protocolo del experimento fué el siguiente:

1. Un voluntario sano sin antecedentes de hipersensibilidad o alérgias a fármacos.
2. El voluntario no tomó fármaco alguno cuando menos una semana antes del día del estudio.
3. No ingirió alimentos después de las 23 horas del día anterior al del estudio.
4. Tomó 250 ml de agua a las 6 y 7 hrs. del día del estudio.
5. Vació la vejiga a las 8 a.m., poco antes de la administración del fármaco.

6. En cada toma de muestra se aseguró el vaciamiento completo de la vejiga, anotando el volumen de cada muestra.
7. Se tomó 100 ml de agua cada hora después de la administración del medicamento.
8. Se colectaron muestras de orina cada media hora hasta la sexta hora.
9. Inmediatamente después de tomar la muestra, ésta se conservó 2 días en congelación a -5°C hasta que fué analizada.
10. Cuatro horas después de haber administración el fármaco, se permitió la ingestión de alimento (1 sandwich, 100 gs de ensalada de fruta de manzana y 100 gs de gelatina).

Se realizó por duplicado el análisis de las muestras al mismo tiempo que una curva patrón, por el método indicado en el inciso b del número 3.3.1.3.2.

3.3.3.2 Administración oral de una solución acuosa.

Se administró 100 ml de una solución acuosa conteniendo una dosis de 100 mg de Nitrofurantoina, a tres voluntarios sanos del sexo masculino, seleccionados en base a resultados normales de pruebas de bioquímica sanguínea, biometría hemática y análisis general de orina (ya mencionadas en 3.3.3.1.).

Se analizó el contenido de la solución por triplica-

do por el método descrito en 3.3.1.3.5 verificando así la dosis administrada, corriendo al mismo tiempo un patrón.

El protocolo de la administración de la solución fué el siguiente:

1. Voluntarios sanos sin antecedentes de hipersensibilidad o alergia a fármacos.
2. No tomaron fármaco alguno 7 días antes de iniciar el estudio (incluyendo aspirina, complementos dietéticos, vitaminas, alcohol, etc.)
3. No ingirieron alimentos después de las 23 hs. del día anterior al del estudio.
4. Tomaron 250 ml de agua a las 6:00 y 7:00 hs. del día del estudio.
5. Vaciaron la vejiga antes de tomar el medicamento (7:45 hs.).
6. Tomaron el medicamento a las 8:00 hs.
7. Después de administrado el medicamento, se tomaron muestras de orina cada media hora hasta la séptima hora.
8. Se tomaron 100 ml de agua a los tiempos 1, 2 y 3 hs. después de la administración del medicamento.
9. Se instruyó a los voluntarios acerca de los importancia del vaciamiento completo de la vejiga en cada toma de muestra.
10. Cada muestra de orina se colecto en una probeta

de 250 ml anotando el volumen correspondiente.

11. Se almacenaron alícuotas de las muestras en congelación inmediatamente después de haberlas tomado y se conservaron así hasta su análisis (3 días).
12. Cuatro horas después de administrado el medicamento, los voluntarios tomaron un desayuno ligero consistente en 2 sandwiches de jamón con queso, 100 gr. de ensalada de manzana con piña y 100 gr. de gelatina.

Se analizaron por duplicado las muestras por el método descrito en 3.3.1.3.5, realizando al mismo tiempo una curva patrón de NTF en orina.

En el Apéndice III A se mencionan las características físicas y edades de los voluntarios.

3.3.3.3 Administración oral del producto innovador.

Se administró el producto innovador a seis voluntarios sanos de sexo masculino, siguiendo el protocolo indicado en 3.3.3.2 excepto los tiempos de toma de muestra que en esta ocasión fueron de 0, 0.5, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 24 hs. después de la administración del comprimido.

Las muestras permanecieron 7 días en congelación hasta su análisis. Cada muestra se analizó por duplicado, (método descrito en el inciso b) de 3.3.1.3.2.), corriendo al mismo tiempo una curva patrón.

En el Apéndice III B se mencionan las características físicas y edades de los voluntarios.

3.3.3.4 Estudio cruzado completo de Dos Vías: producto innovador contra un producto del mercado nacional.

En base al perfil de las pruebas de disolución y los datos de control de calidad, se seleccionó el producto D, químicamente equivalente, pero con un comportamiento de disolución significativamente inferior al producto innovador. (Fig. No. 3).

A partir de datos urinarios y con dosis únicas se realizó un estudio preliminar de biodisponibilidad del innovador y el producto designado con la clave D.

El diseño usado para el estudio fué uno de cuadrado latino completamente cruzado como se indica en la Tabla III. El estudio fué realizado en cuatro voluntarios sanos de sexo masculino, seleccionados en base a resultados normales de pruebas de bioquímica sanguínea, biometría hemática y análisis general de orina.

El protocolo seguido fué básicamente el indicado en 3.3.3.3., excepto en los puntos indicados a continuación:

1. A cada voluntario se le proporcionó una probeta de 250 ml, un juego de 10 tubos con tapón numerados en forma progresiva del 1 al 10, con su nombre y fecha en una etiqueta.

TABLA III. DISEÑO CRUZADO DE DOS VIAS PARA EL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD DEL PRODUCTO INNOVADOR A-VS-EL PRODUCTO D.

GRUPO	VOLUNTARIO	VIERNES	LUNES
I	1	A	D
	2	A	D
II	3	D	A
	4	D	A

2. Vaciaron la vejiga a las 7:45 a.m. sin haber tomado el fármaco, se recolectó una muestra de orina, anotando el volumen total y la hora en la etiqueta correspondiente al tubo núm. 1.
3. Se tomaron el medicamento a las 8:00 a.m., con 100 ml de agua.
4. Después de la administración del medicamento, se realizó la recolección de muestras de orina con el siguiente horario: 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4.5, 6, 8 y 10 hs.

En el Apéndice III C se indican las iniciales y características físicas de los voluntarios.

Las muestras de orina se analizaron por duplicado usando el método descrito en 3.3.1.3.5, corriendo al mismo tiempo una curva patrón de NTF en orina.

3.3.3.5 Bioequivalencia de seis productos.

Se llevó a cabo un estudio de bioequivalencia de NTF a partir de seis productos diferentes, para establecer la magnitud de la variación en los estudios en humanos y determinar en forma aproximada el número de sujetos necesarios para los estudios de bioequivalencia. Se siguió un estudio cruzado de seis vías, como se muestra en la Tabla IV. Se comparó la biodisponibilidad del producto innovador con la de cinco productos del mercado nacional seleccionados en base a grandes diferencias en el comportamiento

TABLA IV. DISEÑO DE CUADRADO LATINO PARA EL ESTUDIO DE
BIODISPONIBILIDAD DE SEIS PRODUCTOS.

INDIVIDUO	DIAS	TRATAMIENTOS					
		I	II	III	IV	V	VI
1	I-25-VIII	A	C	B	E	F	D
2	II-29-VIII	B	D	C	F	A	E
3	III- 1-IX	C	E	D	A	B	F
4	IV- 5-IX	D	F	E	B	C	A
5	V-12-IX	E	A	F	C	D	B
6	VI-12-IX	F	B	A	D	E	C

to de disolución. (Ver Fig. No. 3). Esta fase se realizó en seis voluntarios (sexo masculino, edades entre 23 y 29 años) seleccionados en base a resultados normales de pruebas de bioquímica sanguínea, biometría hemática y análisis de orina. Se siguió el protocolo de la sección 3.3.3.4.

El estudio se realizó a doble ciego, es decir, ni los voluntarios ni el experimentador sabían qué productos se administraban.

Pará tratar de reducir aún más la variación de los resultados, los comprimidos a administrar se seleccionaron en base a una variación de peso menor del 0.5%. Los días de la administración de los productos farmacéuticos se indican en la Tabla IV.

En el Apéndice III se indican las iniciales y características físicas de los voluntarios.

IV. RESULTADOS.

4.1 Pruebas de Control.

En la Tabla V, se presentan los resultados de las pruebas de control practicadas a los diferentes productos farmacéuticos estudiados (de acuerdo a los lineamientos explicados en la sección 3.1). Las pruebas realizadas fueron variación de peso, variación de contenido, contenido, dureza y desintegración.

TABLA V. DETERMINACION DE CONTROL DE CALIDAD PARA PRODUCTOS COMERCIALES CON 100 MG DE NITROFURANTOINA.

PRODUCTO	Variación de Contenido n=3		Contenido (%) n=20	Variación de peso n=10		
	X (%)	S		X (g)	Max	Min%
A*	100.4	1.6	99.5	0.384	2.49	2.72
B	96.4	3.8	96.5	0.247	3.15	2.63
C	92.0**	6.2	92.1**	0.108	8.19	8.41
D	101.5	0.7	100.0	0.385	2.46	2.46
E	91.8	2.7	92.5**	0.237	2.66	3.48
F	95.5**	4.0	98.2	0.416	3.02	2.35
G	91.8	1.0	90.5**	0.257	3.39	3.45
H	94.5**	5.5	100.5	0.245	3.88	3.26
I	99.2	3.7	99.3	0.390	5.83	4.12

* Producto innovador (Producto de Referencia).

** No pasa las especificaciones de la USP XIX

S: Desviación estandar.

TABLA V. (CONTINUACION) DETERMINACION DE CONTROL DE CALIDAD PARA PRODUCTOS COMERCIALES CON 100 MG DE NITROFURANTOINA.

PRODUC- TO	PRUEBA DE DESINTEGRACION								DUREZA	
	Agua destilada (a)		Agua destilada (b)		HCL pH 1.2 (a)		Jugo intestinal (a)		(Kg)	
	\bar{X} (min) s	\bar{X} (min) s	\bar{X} (min) s	\bar{X} (min) s	\bar{X} (min) s	\bar{X} (min) s	\bar{X} (min) s	\bar{X} (min) s	\bar{X} s	s
A*	0.65	0.05	-	-	-	-	-	-	4.1	1.0
B	0.39	0.06	-	-	-	-	-	-	5.7	0.3
C	27.30	15.93	-	-	-	-	-	-	4.5	2.4
D	8.85	3.77	-	-	-	-	-	-	6.3	0.3
E	23.05	1.46	5.00	0.10	12.82	2.05	-	-	-	-
F	47.68	27.85	-	-	-	-	-	-	-	-
G	40.16*	4.95	-	-	-	-	-	-	4.4	0.4
H	-	-	5.00	0.12	30	0.22	43.24	10.41	-	-
I	3.36	1.22	-	-	-	-	-	-	4.5	0.6

* Producto innovador.

** No pasa las especificaciones de la USP XIX

(a) USP XIX 37°C

(b) USP XIX 25°C

S: Desviación estandar.

4.2 Determinación de Nitrofurantoina en solución reguladora de fosfatos 0.2 M, pH 7.2.

4.2.1 Linealidad y repetibilidad.

Los resultados obtenidos al seguir los lineamientos explicados en la sección 3.2.1.4 se presentan en la Tabla IV se obtubieron coeficientes de variación pequeños (0.17-8.1%) para las concentraciones comprendidas entre 1 - 25 mcg/ml. Al graficar los valores de las concentraciones contra el promedio de las absorbancias se obtiene una relación lineal como se muestra en la Figura No. 1, las correspondientes desviaciones estándar para esta curva, son tan pequeñas que no se aprecian en la Figura No. 1, excepto para el valor de 25 mcg/ml. Mediante un análisis de regresión promedio de absorbancia (columnas 1 y 7 de la Tabla VI) por el método de mínimos cuadrados, se obtuvo la ecuación de una línea recta con pendiente (m) de 0.0722, intercepto (b) de 0.002 y un coeficiente de determinación (r^2) de 0.999 ($p < 0.001$).

En la Tabla VII se presentan los valores de m, r^2 y b del análisis estadístico por mínimos cuadrados de regresión lineal para cada curva patrón a partir de los datos obtenidos de la Tabla VI.

4.2.2 Reproducibilidad.

En la Tabla VIII se presentan los resultados obtenidos al seguir los lineamientos explicados en la sección

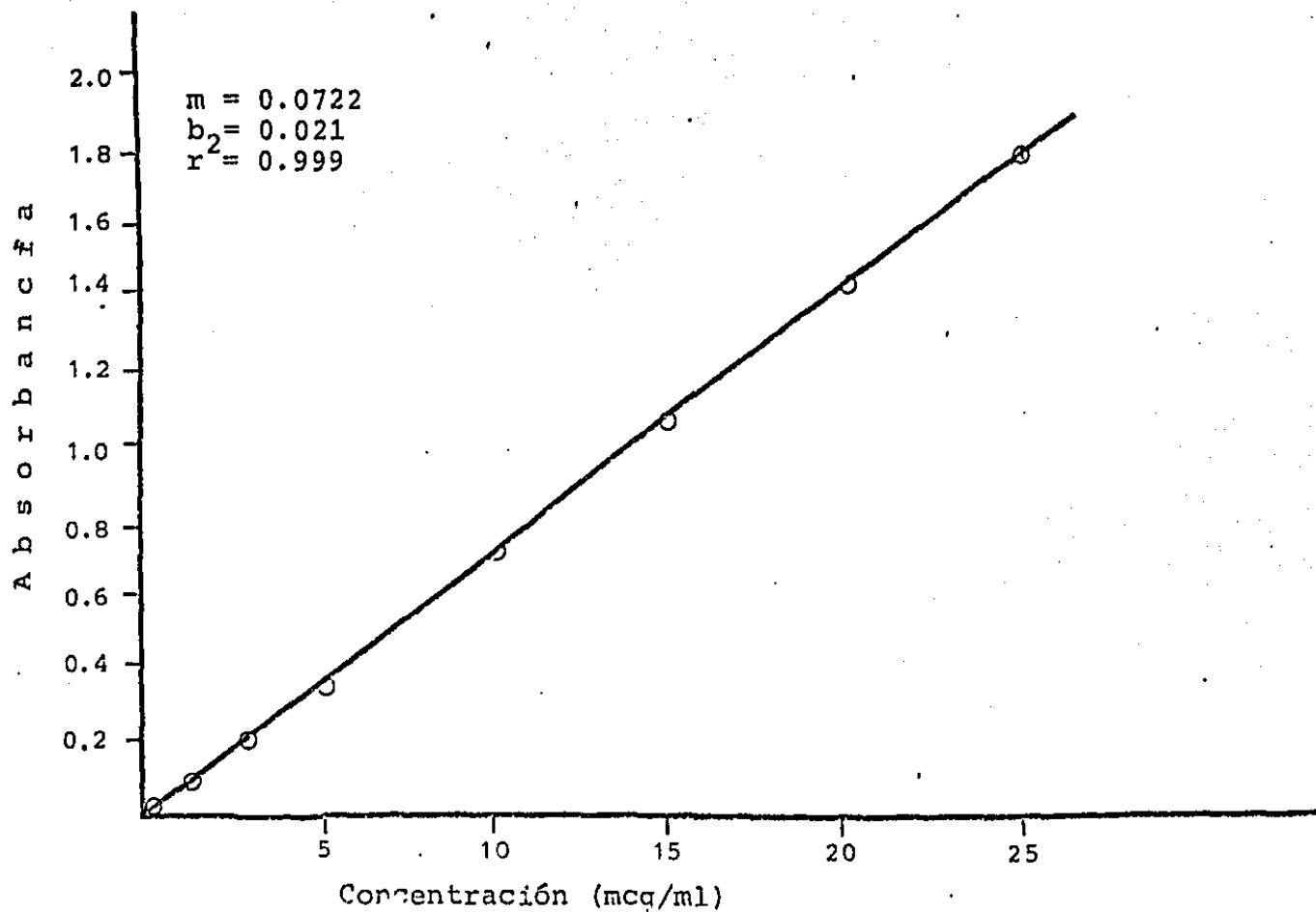


Figura No. 1 - Curva Patrón Promedio en SRF para Nitrofurantoina.

TABLA VI. REPETIBILIDAD DE LA DETERMINACION DE NITROFURAN
TOINA EN SRF.

Columna

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Concen- tración de NTF. mcg/ml	A b s o r b a n c i a .								
	Datos Experimentales					Pro- medio	Desv. estn. (s)	c.v. %	
I	II	III	IV	V					
25.00	1.824	1.805	1.726	1.796	1.819	1.794	0.039	2.2	
20.00	1.399	1.436	1.406	1.430	1.449	1.424	0.021	1.5	
15.00	1.043	1.053	1.039	1.060	1.046	1.048	0.0083	0.79	
10.00	0.710	0.694	0.709	0.702	1.703	0.704	0.0064	0.91	
5.00	0.330	0.333	0.329	0.330	0.316	0.328	0.0067	2.0	
3.00	0.186	0.190	0.189	0.229	0.192	0.197	0.018	9.1	
1.00	0.046	0.046	0.045	0.045	0.044	0.045	0.0008	2.	
0.50	0.010	0.010	0.020	0.012	0.015	0.013	0.004	3X10	
0.0	0.001	0.003	0.000	0.004	0.001	0.004	0.002	9X10	

c.v. % Coeficiente de variación en por ciento.

TABLA VII. PARAMETROS DE ANALISIS DE REGRESION LINEAL
 POR EL METODO DE MINIMOS CUADRADOS DE LAS
 CINCO CURVAS PATRON DE NTF EN SOLUCION
 REGULADORA DE FOSFATOS 0.2 M, pH 7.2.

	Coefficiente de Determinación	Intercepto	Pendiente
I	0.999	-0.0245	0.0726
II	0.999	0.0234	0.0727
III	0.999	-0.0132	0.0702
IV	0.999	-0.0141	0.0721
V	0.999	-0.0267	0.0733

TABLA VIII. ABSORBANCIAS DE LAS CURVAS PATRON DE NI-
 TROFURANTOINA EN SOLUCION REGULADORA DE FOS
 FACTOS 0.2 M A pH 7.2 EN DIFERENTES DIAS.

Concen- tración mcg/ml	A B S O R B A N C I A							
	D I A S					\bar{X}	S	C.V. %
	I	II	III	IV	V			
1.0	0.075	0.074	0.076	0.071				
"	0.076	0.073	0.073	0.066		0.073	0.003	3.
"	0.075	0.071	0.073	0.072				
"	0.075	0.072						
2.0		0.140	0.146	0.144				
"		0.140	0.146	0.143		0.143	0.003	2.
"		0.141	0.146	0.146				
"		0.141						
4.0				0.287	0.274			
"				0.291	0.259	0.280	0.012	4.2
"				0.286	0.282			
6.0				0.436	0.436			
"				0.439	0.424	0.432	0.013	3.0
"				0.446	0.410			
10.0	0.706	0.725	0.717	0.726	0.756			
"	0.702	0.722	0.712	0.735	0.722			
"	0.702	0.722	0.705	0.742	0.721	0.719	0.014	2.0
"	0.700	0.722	0.715					
"			0.716					

TABLA VIII. (CONTINUACION) ABSORBANCIAS DE LAS CURVAS PATRON. DE NITROFURANTOINA EN SOLUCION REGULADORA DE FOSFATOS 0.2 M , pH 7.2. EN DIFERENTES DIAS.

Concentración mcg/ml	A B S O R B A N C I A S							
	D I A S					\bar{X}	S	C.V. %
	I	I	III	IV	V			
20.0				1.483	1.377	1.455	0.027	1.8
"				1.486	1.452			
"				1.486	1.452			
25.0		1.835	1.745					
"		1.835	1.780			1.805	0.027	1.5
"		1.835	1.780					
"		1.823	1.790					

3.2.1.5 a partir de los datos de la Tabla VIII se calculó el coeficiente de variación diario, en por ciento, para la determinación espectrofotométrica de NTF en solución reguladora de fosfatos 0.2 M, pH 7.2, los cuales se muestran en la Tabla IX.

Mediante un análisis de regresión lineal por el método de mínimos cuadrados de los valores experimentales de concentración y promedio de las absorbancias de los diferentes días (columnas 1 y 3 de la Tabla IX) se obtuvo la ecuación de una línea recta con $m=0.0725$, $b=0.003$ y $r^2=0.999$ ($p<0.001$).

En la Tabla X se presentan los parámetros m , b y r^2 obtenidos del análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados para las curvas realizadas los días I, II, III y IV.

4.2.3 Mínima concentración detectable.

Se siguió el procedimiento indicado en la sección 3.2.1.6; en la Tabla XI se presentan las absorbancias de las concentraciones de 1.00, 0.40, 0.32, 0.10 y 0.00 mcg/ml.

4.2.4 Intervalo de concentración de máxima precisión.

Se siguieron los lineamientos explicados en la sección 3.2.1.6. En la Tabla XII se presentan los resultados de absorbancia de las diferentes concentraciones estudiadas,

TABLA IX. COEFICIENTE DE VARIACION DIARIO. DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE NITROFURANTOINA EN SOLUCION REGULADORA DE FOSFATOS 0.2 M, pH 7.2.

Concentración mcg/ml	n	\bar{x}	s	c.v. %
1.00	4	0.003	0.003	3.09
2.00	3	0.143	0.003	3.770
4.00	2	0.280	0.00817	2.91
6.00	2	0.439	0.0085	1.96
10.00	5	0.719	0.01221	1.694
20.00	2	1.455	0.0275	1.88
25	2	1.804	0.02705	1.4986

TABLA X. ANALISIS POR MINIMOS CUADRADOS DE CUATRO CURVAS PATRON DE NTF EN SOLUCION REGULADORA DE FOSFATOS 0.2 M, pH 7.2 ANALIZADAS Y PREPARADAS EN DIFERENTES DIAS.

Curva	Coefficiente de determinación	Pendiente	Intercepto
I	1.000	0.0711	0.001
II	0.999	0.0742	-0.004
III	0.999	0.0718	-0.003
IV	0.999	0.0723	-0.001

TABLA XI. MINIMA CONCENTRACION DETECTABLE POR EL METODO ESPECTROFOTOMETRICO PARA NTF EN SOLUCION REGULADORA DE FOSFATOS 0.2 M, pH 7.2.

Concen- tración mcg/ml	A B S O R B A N C I A					
	1	2	3	\bar{X}	S	C.V. %
0.00	0.001	0.004	0.000	0.002	0.002	1×10^2
0.10	0.003	0.002	0.000	0.002	0.002	1×10^2
0.32	0.029	0.027	0.027	0.028	0.001	4.
0.28	0.040	0.037	0.037	0.038	0.002	5.
1.00	0.071	0.066	0.072	0.070	0.003	5.

TABLA XII. INTERVALO DE CONCENTRACION DE MAXIMA PRECISION
 PARA LA DETERMINACION DE NTF EN SOLUCION REGULADORA DE FOSFATOS 0.2 M, pH 7.2.

Concentración mcg/ml	Abs. media	Trans.* media %	Desv. Estn.	N	C.V. (S/X) %
0.10	0.003	99.38	0.001	3	7X10
0.32	0.028	93.82	0.001	3	3X10
0.48	0.038	91.62	0.001	3	4X10
1.00	0.073	84.52	0.002	14	3.
2.00	0.143	71.86	0.002	10	1.7
3.20	0.228	59.15	0.001	3	0.6
4.00	0.280	52.38	0.011	6	3.8
5.00	0.359	43.71	0.004	5	1.2
6.00	0.432	36.91	0.002	6	2.7
8.00	0.572	26.79	0.0042	3	0.74
10.00	0.719	19.08	0.0130	19	1.91
12.00	0.874	13.36	0.0010	3	0.20
15.00	1.081	8.30	0.0037	4	0.35
16.00	1.133	7.36	0.0028	3	0.25
20.00	1.455	3.51	0.037	3	2.5
24.00	1.749	1.78	0.015	3	0.9
25.00	1.802	1.58	0.029	9	1.7

$r^2 = 0.999$, pendiente = 0.0700, intercepto = 0.007,

* Transmittancia.

el número de determinaciones realizadas y datos del valor promedio, la desviación estandar y el coeficiente de variación de las absorbancias.

Para calcular el intervalo de concentración de máxima precisión de éste método espectrofotométrico se utilizó la representación de Ringbom (49) que consiste en convertir los valores de absorbancia de cada una de las concentraciones a transmitancia y graficar $(100 - \% T)$ frente al logaritmo de las concentraciones como se muestra en la Figura 2.

4.3 Perfil de disolución de nueve productos de Nitrofurantoína.

Los estudios de velocidad de disolución se realizaron de acuerdo al procedimiento indicado en 3.2.2.3. Las absorbancias de las 12 muestras del producto en estudio se interpolaron en la gráfica de la curva estandar para cada tiempo de muestreo. Cada concentración fué corregida por el factor de dilución y se determinó la cantidad disuelta mediante la ecuación 1.

$$Cd_n = X \cdot FD_{900} + \sum_{s=1}^{n-1} (X \cdot FD)_n \quad \text{ec. (1)}$$

donde:

Cd_n = cantidad disuelta a tiempo t.

X = concentración de valores obtenidos por inter-

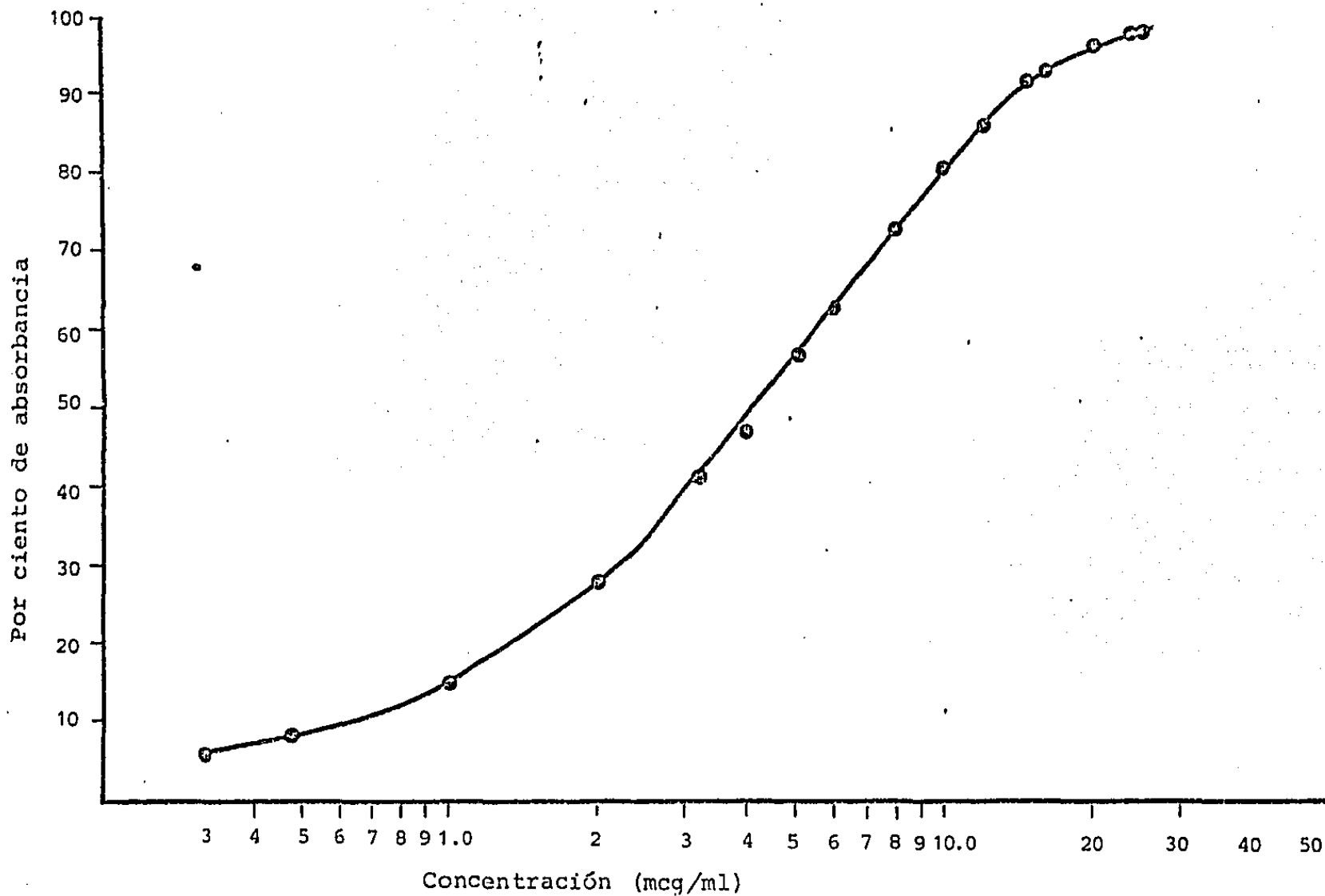


Figura No. 2 Representación de Rirqom para el método espectrofotométrico de Nitrofurantoína en SRF..

polación en la curva patrón.

FD = factor de dilución.

$(X. FD)_n$ = concentración promedio a tiempo t medio de los seis vasos de disolución.

Los resultados de los valores de la cantidad disuelta contra tiempo: (2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 130, 140 y 150 min) se presenta en la Tabla XIII, así como sus valores medios y correspondientes desviaciones estandar. La Figura No. 3 resume los valores promedio de la cantidad disuelta contra tiempo para los nueve productos.

4.4 Estudios in vivo: biodisponibilidad de Nitrofurantoína en humanos.

4.4.1 Determinación de Nitrofurantoína en orina.

4.4.1.1 Efecto de la concentración de hidróxido de potasio sobre el método nitrometano-hiamina (N-H).

Se determinaron las absorbancias de cada uno de los experimentos indicados en la sección 3.3.1.3.1. Cada uno de éstos se realizó por triplicado; en la Tabla XIV se muestran los resultados obtenidos, así como sus correspondientes datos promedio, desviación estandar y coeficiente de variación.

4.4.1.2 Efecto del agente acidificante en la extracción de Nitrofurantoína de la fase acuosa.

Se siguieron los lineamientos descritos en 3.3.1.3.2.

TABLA XIII. RESULTADOS DEL ESTUDIO DEL PERFIL DE DISOLUCION DE NTF A PARTIR DE NUEVE DIFERENTES PRODUCTOS COMERCIALES.

Tiempo (min.)	CANTIDAD DISUELTA, MG (S)			
	A	B	C	D
2.5	8.68 (1.70)	50.67 (6.10)	1.15 (0.36)	0.03 (0.00)
5	12.82 (0.99)	72.02 (6.65)	1.92 (0.42)	0.04 (0.00)
10	20.71 (1.40)	75.52 (4.60)	3.09 (0.49)	0.06 (0.04)
15	24.55 (0.32)	78.36 (15.12)	4.34 (1.41)	1.76 (1.00)
30	35.69 (2.37)	83.12 (7.97)	16.36 (6.90)	12.03 (12.60)
45	45.99 (3.99)	84.39 (6.37)	27.00 (8.92)	29.27 (20.27)
60	54.99 (4.08)	87.13 (6.69)	34.03 (11.55)	38.32 (17.82)
90	63.18 (7.05)	90.78 (3.42)	46.36 (9.03)	50.38 (19.10)
120	69.34 (5.96)	95.12 (3.26)	56.82 (5.41)	49.86 (14.41)
130	74.36 (5.85)	99.01 (6.88)	59.00 (4.93)	61.82 (17.68)
140	79.00 (4.78)	94.35 (3.30)	61.94 (38.06)	59.69 (19.06)
150	80.95 (4.89)	94.86 (4.73)	66.33 (2.42)	64.85 (15.55)

TABLA XIII. (CONTINUACION) RESULTADOS DEL ESTUDIO DEL PER
FIL DE DISOLUCION DE NTF A PARTIR DE NUEVE DI
FERENTES PRODUCTOS COMERCIALES.

Tiempo (min.)	CANTIDAD DISUELTA				MG	(S)	I
	E	F	G	H			
2.5	1.28 (0.36)	4.01 (3.80)	0.08 (0.08)	0.0 (0.00)	21.87 (3.21)		
5	2.11 (0.48)	6.49 (3.15)	0.46 (0.15)	0.0 (0.00)	42.42 (5.24)		
10	3.15 (0.46)	9.75 (2.60)	0.65 (0.22)	0.0 (0.00)	45.87 (5.06)		
15	4.07 (0.96)	15.52 (2.85)	0.89 (0.32)	0.0 (0.00)	49.03 (4.58)		
30	5.99 (1.38)	22.84 (4.43)	1.11 (0.53)	0.01 (0.00)	55.68 (5.42)		
45	6.96 (1.61)	30.76 (8.02)	1.62 (0.64)	0.02 (0.22)	57.93 (8.59)		
60	8.31 (2.06)	30.04 (4.88)	2.51 (1.09)	0.51 (0.11)	60.94 (4.93)		
90	10.26 (2.31)	36.95 (6.37)	3.53 (1.21)	3.73 (2.28)	58.22 (8.81)		
120	11.83 (3.01)	51.05 (8.56)	4.28 (2.04)	12.19 (5.43)	70.83 (6.34)		
130	12.52 (2.86)	52.18 (8.92)	4.14 (1.26)	18.70 (7.43)	70.93 (6.77)		
140	13.15 (2.90)	54.72 (8.93)	4.07 (1.32)	22.28 (7.76)	70.33 (10.48)		
150	13.02 (3.03)	60.86 (13.37)	3.62 (1.75)	25.92 (8.50)	75.16 (7.43)		

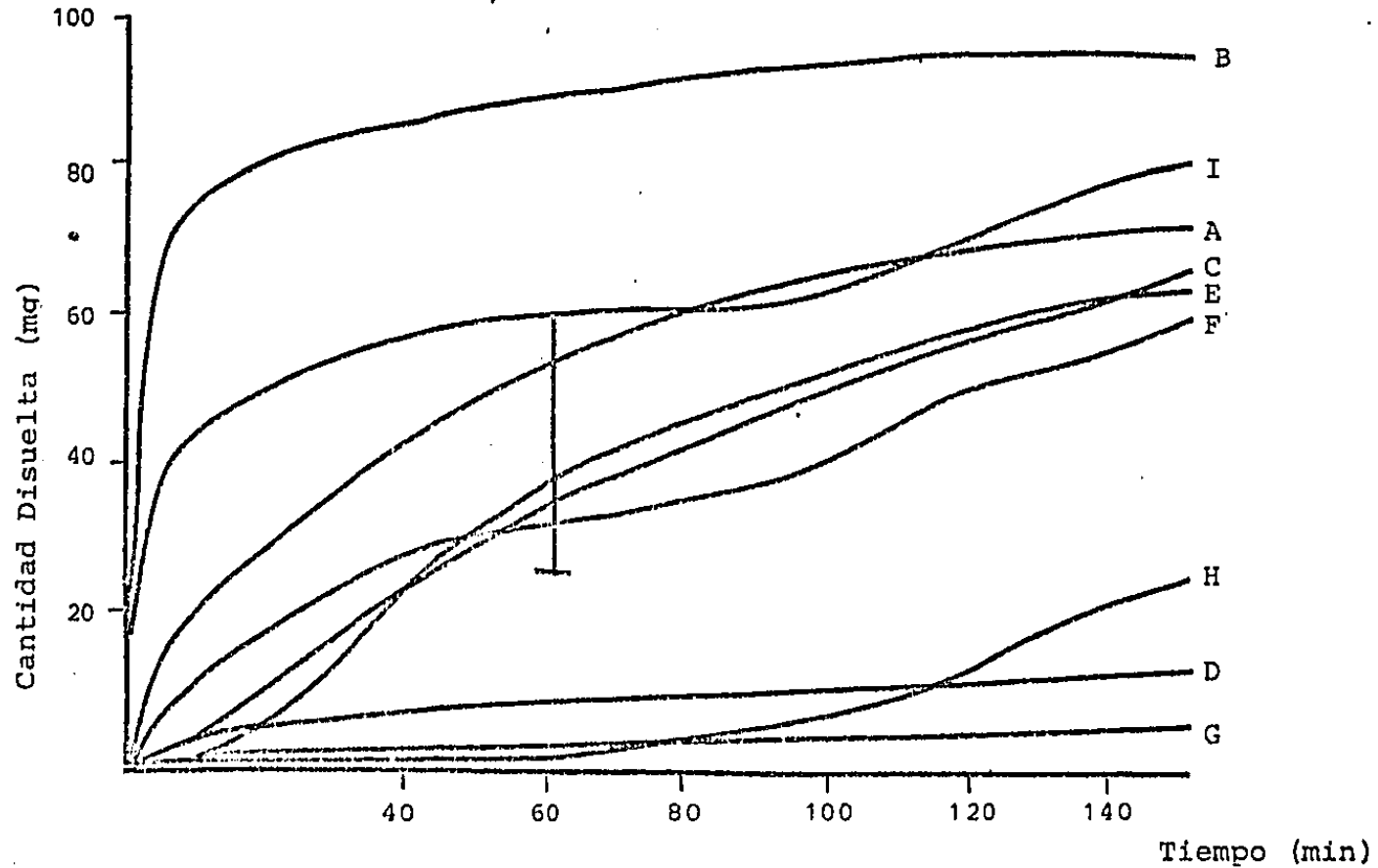


Figura No. 3 - Gráfica de la cantidad disuelta de Nitrofurantoina contra tiempo a partir de nueve productos comerciales. (El área sombreada indica los límites farmacopeicos (USP XIX), en solución reguladora de 0.2 M, pH 7.2 a 100 rpm, 37°C).

TABLA XIV. EFECTO DE LA CONCENTRACION DE HIDROXIDO DE POTASIO SOBRE EL METODO NITROMETANO-HIAMINA.

Tubo	Absorbancia a 4000 nm			\bar{X}	S	C.V. %
1.	0.285	0.266	0.262	0.271	0.012	4.5
2	0.787	0.780	0.774	0.780	0.007	0.8
3	0.184	0.182	0.176	0.180	0.005	3.
4	0.029	0.057	0.085	0.057	0.028	49.
5	*	*	*			
6	*	*	*			
7	0.496	0.319	0.275	0.363	0.117	32.2
8	0.242	0.229	0.235	0.235	0.007	3.
9	*	*	*			
10	0.417	0.414	0.464	0.402	0.028	6.5
11	0.560	0.582	0.602	0.581	0.021	3.6

* Exceso de color.

S; Desviación Estandar.

En la Tabla XV se presentan los datos promedio de absorbancia, desviación estandar y coeficiente de variación al utilizar cristales de sulfato de amonio, solución saturada de sulfato de amonio y ácido clorhídrico 0.2 M.

4.4.1.3 Efecto de la cantidad de hiamina sobre la linealidad del método nitrometano-hiamina.

Los resultados obtenidos al seguir los lineamientos indicados en el inciso 3.3.1.3.3. se muestran en la Tabla XVI. Los datos de concentración de NTF, pueden ser transformados a milimoles y utilizarse para establecer la relación molar de la NTF y el cloruro de hiamina. La Tabla XVII muestra dichas relaciones molares.

Haciendo una gráfica de la relación molar entre la NTF y la hiamina contra la absorbancia, como se muestra en la Figura No. 4, la curvatura de la línea se lleva a cabo en torno a la composición estequiométrica del complejo, si se conociera la estequiometría de la reacción se podría aprovechar esta gráfica para calcular la constante de disociación del complejo (49).

4.4.1.4 Efecto de la cantidad de disolvente extractor sobre la sensibilidad del método nitrometano-hiamina.

Los resultados obtenidos al seguir el procedimiento descrito en 3.3.1.3.3 se indica en la Tabla XVIII. La

TABLA XV. EFECTO DEL AGENTE ACIDIFICANTE EN LA DETERMINACION DE NTF EN ORINA POR EL METODO ESPECTROFOTOMETRICO.

Concentración mcg/ml	Cristales de (NH ₄) ₂ SO ₄		HCl 0.2 M		Solución saturada de (NH ₄) ₂ SO ₄	
	\bar{X} (n=4)	S	\bar{X} (n=2)	S	\bar{X} (n=2)	D.E.
100.00	1.239	1.849	1.346	0.016	1.311	0.021
50.00	-	-	0.653	0.016	0.645	0.002
40.00	0.521	0.103	-	-	-	-
25.00	-	-	0.324	0.012	0.334	0.002
20.00	0.224	0.007	-	-	-	-
12.00	0.144	0.001	-	-	-	-
10.00	-	-	0.128	0.001	0.125	0.001
8.00	0.120	0.028	-	-	-	-
5.00	-	-	0.078	0.018	0.091	0.001
4.00	0.620	0.049	-	-	-	-
2.00	0.068	0.025	-	-	-	-
1.00	-	-	0.034	0.002	0.016	0.002
0.00	0.022	0.004	0.022	0.001	0.011	0.001

TABLA XVI. EFECTO DE LA CANTIDAD DE HIAMINA SOBRE LA LINEALIDAD DEL METODO NITROMETANO-HIAMINA.

Concentracion de NIT en ori- ginal mcg/ml	A B S O R B A N C I A					
	I 0.1 ml de hiamina 0.01 M en 0.16 M de KOH en metanol		II 0.1 ml de hiamina 0.04 M en 0.16 M de KOH en metanol		III 0.5 ml de hiamina 0.04 en 0.16 M de KOH en metanol	
	\bar{X} (n=5)	S	\bar{X} (n=5)	S	\bar{X} (n=5)	S
0.00	0.011	0.84	0.005	8.0	0.000	19.01
2.00	0.186	2.39	0.094	0.4	0.046	39.16
4.00	0.548	4.26	0.182	0.4	0.057	29.25
8.00	0.662	1.28	0.345	0.6	0.084	4.2
12.00	0.745	0.83	0.496	1.1	0.122	1.03
20.00	0.810	0.48	0.621	1.5	0.202	2.78
40.00	0.840	1.28	0.723	1.8	0.383	0.20
100.00	0.847	0.630	0.823	0.39	0.938	2.6

TABLA XVII. RELACION MOLAR $\frac{\text{NIF}}{\text{HIAMINA}}$ CONTRA ABSORBANCIA.

$\frac{\text{mcg}}{\text{nl}}$	NIF	0.1 ml de hiamina 0.01 M		0.1 ml de hiamina 0.04 M		0.5 ml de hiamina 0.04 M	
		$\frac{\text{mol NIF}}{\text{mol hiamina}}$	Absor- bancia	$\frac{\text{mol NIF}}{\text{mol hiamina}}$	Absor- bancia	$\frac{\text{mol NIF}}{\text{mol hiamina}}$	Absor- bancia
0.00		0.00	0.001	0.00	0.003	0.00	0.001
2.00		8.40	0.186	2.10	0.094	0.42	0.046
4.00		16.80	0.548	4.20	0.182	0.84	0.057
8.00		33.16	0.662	8.40	0.345	1.68	0.084
12.00		50.43	0.745	12.61	0.496	1.52	0.122
20.00		84.00	0.810	21.00	0.621	4.20	0.202
40.00		168.10	0.840	42.02	0.723	8.40	0.383
100.00		420.17	0.847	105.04	0.823	21.01	0.626

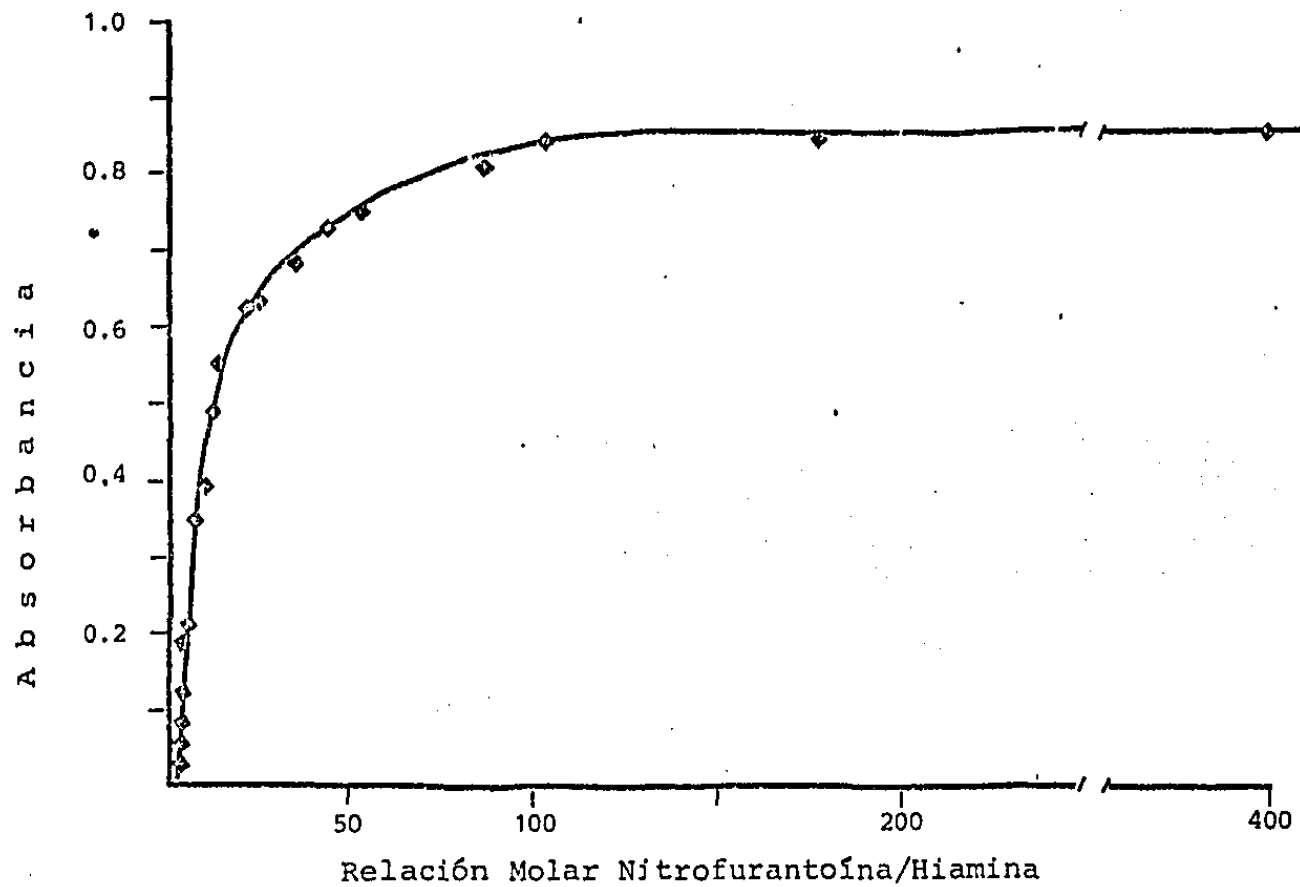


Figura No. 4 - Gráfica de la relación molar de NTF/hiamina contra absorbancia.

TABLA XVIII. EFECTO DE LA CANTIDAD DE DISOLVENTE EXTRAC-
TOR SOBRE EL METODO NITROMETANO-HIAMINA.

Concen- tración mcg/ml	5 ml de Nitrometano			3 ml de Nitrometano		
	<u>Abs.</u> X (n=3)	S	C.V. %	<u>Abs.</u> X n=3)	S	C.V. %
0.00	0.012	0.006	5X10	0.020	0.002	1X10
1.00	0.021	0.006	3X10	0.030	0.003	1X10
5.00	0.079	0.008	1X10	0.102	0.007	7.9
10.00	0.139	0.005	3.	0.175	0.002	1.
25.00	0.345	0.007	2.	0.437	0.011	2.5
50.00	0.656	0.008	1.	0.888	0.028	3.2
100.00	1.359	0.048	3.5	1.767	0.040	2.3

Tabla XIX muestra algunos valores estadísticos de la regresión lineal obtenida por mínimos cuadrados de los valores experimentales de concentración y promedio de las absorbancias para los dos métodos.

4.4.2 Repetibilidad y reproducibilidad del método nitrometano-hiamina.

Para determinar la repetibilidad del método nitrometano-hiamina, se siguieron los lineamientos indicados en la sección 3.3.1.4. Se determinó la concentración de NTF en orina en una curva patrón (100, 50, 25, 10, 5, 1 y 0 mcg/ml) por cuadruplicado. Los resultados y análisis estadísticos de los datos se muestran en la Tabla XX, en la columna 4 se encuentra el coeficiente de variación en por ciento lo que determina la repetibilidad del método nitrometano-hiamina.

Considerando la absorbancia promedio de las cuatro determinaciones, después de hacer un análisis de correlación lineal se obtiene un coeficiente de determinación de 0.999 ($p < 0.01$).

En la Tabla XXI se muestra la reproducibilidad del método N-H después de seguir los lineamientos indicados en la sección 3.3.1.5, en dicha tabla se presentan las absorbancias de las determinaciones de las curvas patrón de NTF en orina (100, 50, 25, 10, 5 y 0 mcg/ml) analizadas de acuerdo

TABLA XIX. PARAMETROS ESTADISTICOS DE LA REGRESION LINEAL DE LAS CURVAS PATRON PARA EL EFECTO DE LA CANTIDAD DEL DISOLVENTE EXTRACTOR.

Parámetro	5 ml de nitrometano	3 ml de nitrometano
Coefficiente de determinación	0.999	0.999
Pendiente	0.0134	0.0175
Intercepto	0.007	0.010

TABLA XX. REPETIBILIDAD DEL METODO NITROMETANO-HIAMINA

(n = 5).

Concentración mcg/ml	\bar{X}	S	C.V. %
100.00	1.754	0.043	2.5
50.00	0.894	0.022	2.5
25.00	0.440	0.019	2.3
10.00	1.177	0.004	2.
5.00	0.079	0.007	9.
1.00	0.027	0.008	3X10
0.00	0.018	0.002	1X10

TABLA XXI. REPRODUCIBILIDAD DEL METODO NITROMETANO-HIA
MINA. CURVAS PATRON EN ORINA EN DIFERENTES
DIAS.

Concen- tración mcg/ml	I (n = 4)		II (n=4)		III (n=2)		IV (n=2)		Total de curvas		
	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S	C.V. %
1	2	3	4	5	6	7	8				
100	1.705 (0.018)	1.754 (0.043)	1.734 (0.037)	1.763 (0.015)	1.739 (0.026)	1.5					
50	0.818 (0.019)	0.894 (0.022)	0.889 (0.056)	0.932 (0.001)	0.883 (0.048)	5.4					
25	0.373 (0.010)	0.440 (0.010)	0.444 (0.004)	0.467 (0.004)	0.431 (0.040)	9.3					
10	0.177 (0.044)	0.177 (0.004)	0.173 (0.004)	0.197 (0.002)	0.181 (0.011)	6.1					
5	0.102 (0.003)	0.079 (0.007)	0.093 (0.000)	0.116 (0.004)	0.098 (0.016)	16.3					
1	0.044 (0.003)	0.027 (0.008)	0.026 (0.003)	0.037 (0.001)	0.034 (0.009)	3x10					
0	0.031 (0.002)	0.018 (0.002)	0.005 (0.001)	0.018 (0.004)	0.018 (0.011)	61					
r^2	0.999	0.998	0.999	0.999	0.998						

do al procedimiento indicado en 3.3.1.3.5. Se presentan las medidas de absorbancia para los valores de las cuatro curvas patrón. En la última columna de esta Tabla XXI se muestran los coeficientes de variación entre las medias de las absorbancias de cada curva patrón, analizadas en diferentes días, el coeficiente de variación indica la reproducibilidad del método nitrometano-hiamina. Todas las curvas patrón estudiadas tuvieron valores de r^2 mayores de 0.998.

4.4.3 Linealidad, recobro e intervalo de concentraciones de máxima precisión del método nitrometano-hiamina en orina.

Los resultados obtenidos al seguir las indicaciones del inciso 3.3.1.3.5 se presentan en la Tabla XXII. La curva patrón muestra un coeficiente de determinación de 0.999.

La Figura No. 5 muestra la representación de Ringbom (49) para los datos de la Tabla XXII, al graficar el logaritmo de la concentración contra el % de absorbancia. En la Figura No. 5 se observa que el intervalo de concentración óptimo esta entre 7 y 75 mcg/ml.

En la Tabla XXIII, se indican las absorbancias de las concentraciones de la NTF en nitrometano (28.10, 11.20, 5.60, 1.12 y 0.00 mcg/ml), así como las absorbancias re-

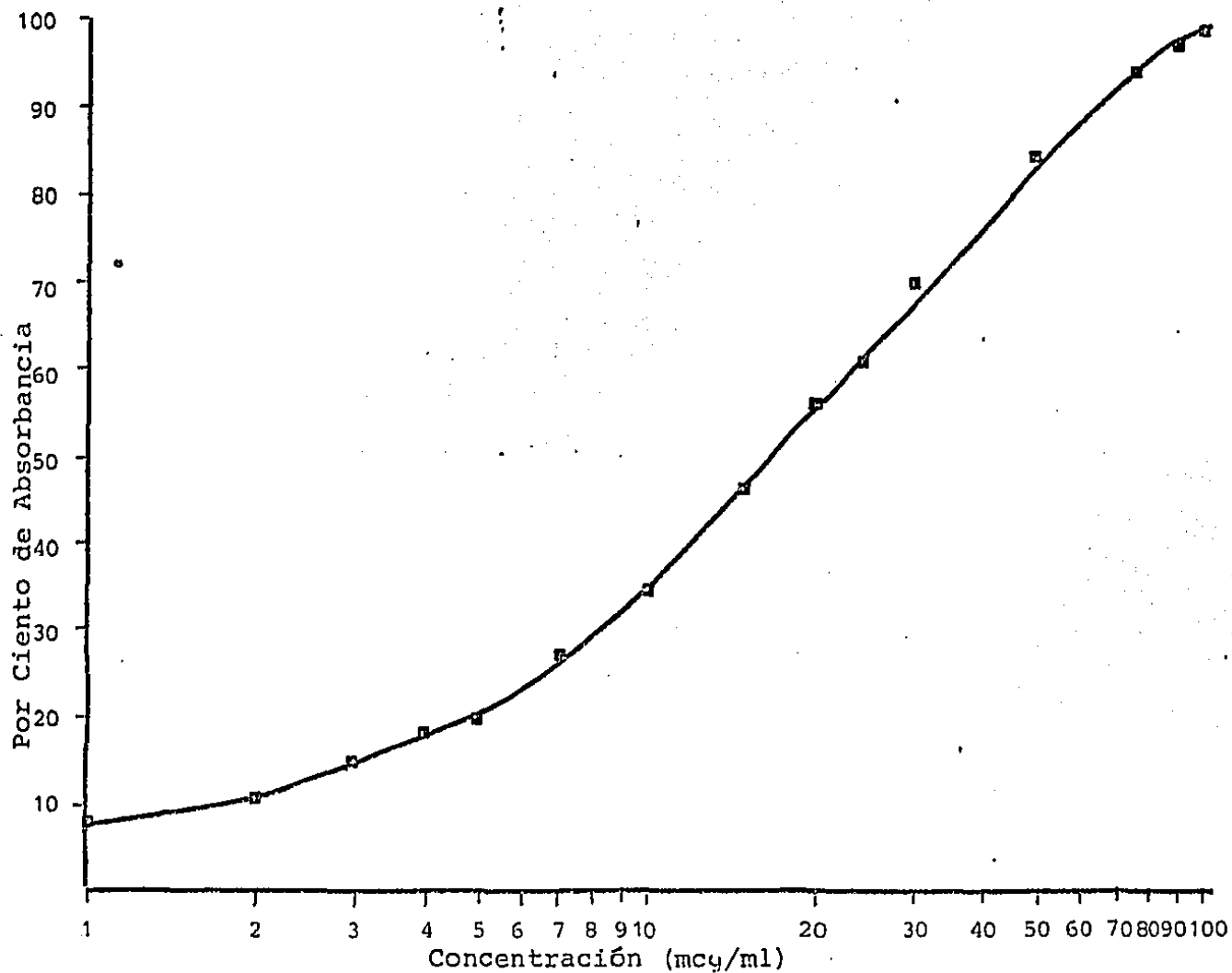


Figura No. 5 - Representación de Ringborm, Intervalo de concentración óptimo para el método nitrometano-hiamina (7 - 75 mcg/ml).

TABLA XXII. DETERMINACION DEL INTERVALO DE CONCENTRACION OPTIMA PARA EL METODO NITROMETANO-HIAMINA EN ORINA.

Concentración mcg/ml	Absorbancia		Media	Absorbancia (100% transmi- tancia)
100	1.706	1.738	1.722	98.10
90	1.584	1.511	1.584	97.39
75	1.321	1.264	1.293	94.55
50	0.819	0.882	0.851	85.90
30	0.535	0.523	0.529	70.42
25	0.374	0.430	0.402	60.37
20	0.360	0.358	0.359	56.25
15	0.273	0.276	0.275	46.91
10	0.176	0.180	0.178	33.63
7	0.133	0.144	0.139	27.38
5	0.103	0.099	0.101	20.75
4	0.081	0.095	0.088	18.34
3	0.063	0.079	0.071	15.08
2	0.046	0.062	0.054	11.69
1	0.044	0.033	0.039	8.59
0	0.030	0.018	0.024	5.37

TABLA XXIII. CURVAS PATRON PARA CALCULAR EL PORCENTAJE DE RECUPERACION.

NITROMETANO

ORINA

Concen- tración mcg/ml	Absorb. media (n=4)	Absorb. media - Absorb. blanco	Desv. estn. (s)	Concen- tración mcg/ml	Absorb. media (n=4)- Absorb. blanco	Absorb. media -	Desv. estn. (s)
28.10	1.554	1.524	0.015	52.00	0.997	0.937	0.004
11.20	0.575	0.545	0.002	26.00	0.511	0.451	0.005
5.60	0.309	0.279	0.003	10.50	0.234	0.174	0.008
1.10	0.082	0.052	0.004	5.20	0.142	0.082	0.003
0	0.030	0.000	0.004	1.00	0.080	0.020	0.004
				0.00	0.060	0.000	0.014

sultado del análisis de la curva patrón de NTF en orina (52, 26, 10.5, 5.2, 1 y 0 mcg/ml) utilizadas para la determinación del % de recuperación.

El cálculo de porcentaje de recuperación se llevó a cabo de la siguiente manera: mediante la regresión lineal de los valores experimentales de la concentración y promedio de las absorbancias de la curva estándar en nitrometano (Tabla XXIV), por el método de mínimos cuadrados se obtuvo una línea recta con $m=0.0548$, $b=0.001$ y r^2 de 0.999; si se extrae el 100% de NTF de la orina la concentración esperada es la fase orgánica sería una tercera parte de la encontrada en orina ya que cada ml de orina se extrae con tres ml de nitrometano; con este dato de concentración se extrapola en la curva patrón de nitrometano y se obtiene la absorbancia correspondiente al 100% la cual se compara con la absorbancia correspondiente en orina.

Este porcentaje de recuperación se presenta en la Tabla XXV para cada concentración de la curva patrón en orina.

4.4.4 Determinación de Nitrofurantoina en sangre.

Método colorimétrico.

Se aplicó el método descrito en la sección 3.3.2.1 para analizar la curva patrón de Nitrofurantoina en sangre de conejo, con citrato de potasio como anticoagulante (10,

TABLA XXIV. ANALISIS ESTADISTICO DE REGRESION LINEAL POR MINIMOS CUADRADOS DE LAS CURVAS PATRON ANALIZADAS POR EL METODO NITROMETANO-HIAMINA.

Parámetro	Nitrometano	Orina
Pendiente	0.0548	0.0188
Intercepto	0.001	0.0188
Coefficiente de correlación	0.999	0.999

TABLA XXV. PORCENTAJE DE RECUPERACION DEL METODO NITRO-METANO-HIAMINA.

Concentración en orina mcg / ml	% recuperado \pm desviación es- tandar
52.60	97.4 \pm 0.9
26.30	92.9 \pm 0.9
10.50	87.5 \pm 0.9
5.30	78.9 \pm 0.9
1.00	72.1 \pm 0.0

5, 1, 0.5, 0.2 y 0.0 mcg/ml); cada concentración de la curva patrón se determinó por quintuplicado. Los resultados experimentales de las absorbancias se muestran en la Tabla XXVI. Por análisis de regresión lineal se obtuvo una recta cuya ecuación más o menos una desviación estándar es: $y = (0.0115 \pm 0.0017) X + (0.002 \pm 0.016)$, con un coeficiente de variación en la pendiente de 14.7% y un coeficiente de correlación de 0.984 ($p < 0.01$).

4.4.5 Estudios preliminares de biodisponibilidad a partir de datos urinarios.

4.4.5.1 Administración intravenosa.

En la Tabla XXVII se presentan los datos experimentales obtenidos al seguir el protocolo indicado en 3.3.

3.1. La columna 1 de dicha tabla indica el tiempo de toma de muestra (t) la columna 2 indica la cantidad excretada en orina en el intervalo de muestreo (ΔAe), la columna 3 el intervalo de tiempo de muestreo (Δt), la columna 4 la cantidad acumulativa excretada (Ae), la columna 5 indica la velocidad promedio de excreción en el intervalo de muestreo $\frac{\Delta Ae}{(\Delta t)}$, más o menos una desviación estándar ($\pm S$), la columna 6 el tiempo medio del intervalo de muestreo (t_{mid}), y la columna 7 el porcentaje de la cantidad remanente para ser excretada.

La Figura No. 6 muestra una gráfica del logaritmo de la velocidad de excreción contra tiempo medio (t_{mid}),

TABLA XXVI. DETERMINACION DE NITROFURANTOINA EN SANGRE.

Concentración mcg/ml	A B S O R B A N C I A		
	X	S	C.V. %
10.00	0.172	0.008	5.
5.00	0.099	0.022	22.
1.00	0.072	0.003	4.
0.50	0.061	0.004	6.
0.20	0.048	0.020	42.
0.00	0.050	0.010	20.0

TABLA XXVII. CANTIDAD DE NTF EXCRETADA EN ORINA DESPUES DE LA ADMINISTRACION I.V. DE 50 MG A UN INDIVIDUO SANO.

t (h)	ΔAc (mg)	Δt (h)	Ae (mg)	$\frac{\Delta Ae}{\Delta t}$	t _{mid} (h)	$(1 - \frac{Ae}{Ae_{6.5}}) \times 100$
1	2	3	4	5	6	7
0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0	100.0
0.5	17.93	0.5	17.93	35.8 \pm 0.4	0.25	44.7
1.0	8.01	0.5	25.94	16.02 \pm 1.6	0.75	20.0
1.5	4.96	0.5	30.91	9.92 \pm 1.8	0.25	4.7
2.0	1.15	0.5	32.10	2.3 \pm 0.2	1.75	1.0
2.5	0.32	0.5	32.37	0.64 \pm 0.2	2.25	0.2
3.0	0.06	0.5	32.43	0.11 \pm 0.1	2.75	0.00
3.5	0.00	0.5	0.0	0.0	3.25	0.0
4.0	0.00	0.5	0.0	0.0	3.75	0.0
4.5	0.00	0.5	0.0	0.0	4.25	0.0
5.5	0.00	0.5	0.0	0.0	5.0	0.0
6.5	0.00	0.5	0.0	0.0	6.0	0.0

ΔAe : cantidad excretada en el intervalo de tiempo indicado (mg)

Ae : cantidad acumulativa excretada (mg)

$\Delta Ae/\Delta t$: velocidad de excreción (mg/h)

t_{mid}: tiempo medio en el intervalo de toma de muestra

$(1 - Ae/Ae_{6.5}) \times 100$: por ciento remanente por ser excretado a las 6.5 h.

t : tiempo después de la administración (h)

Δt : intervalo de toma de muestra (h).

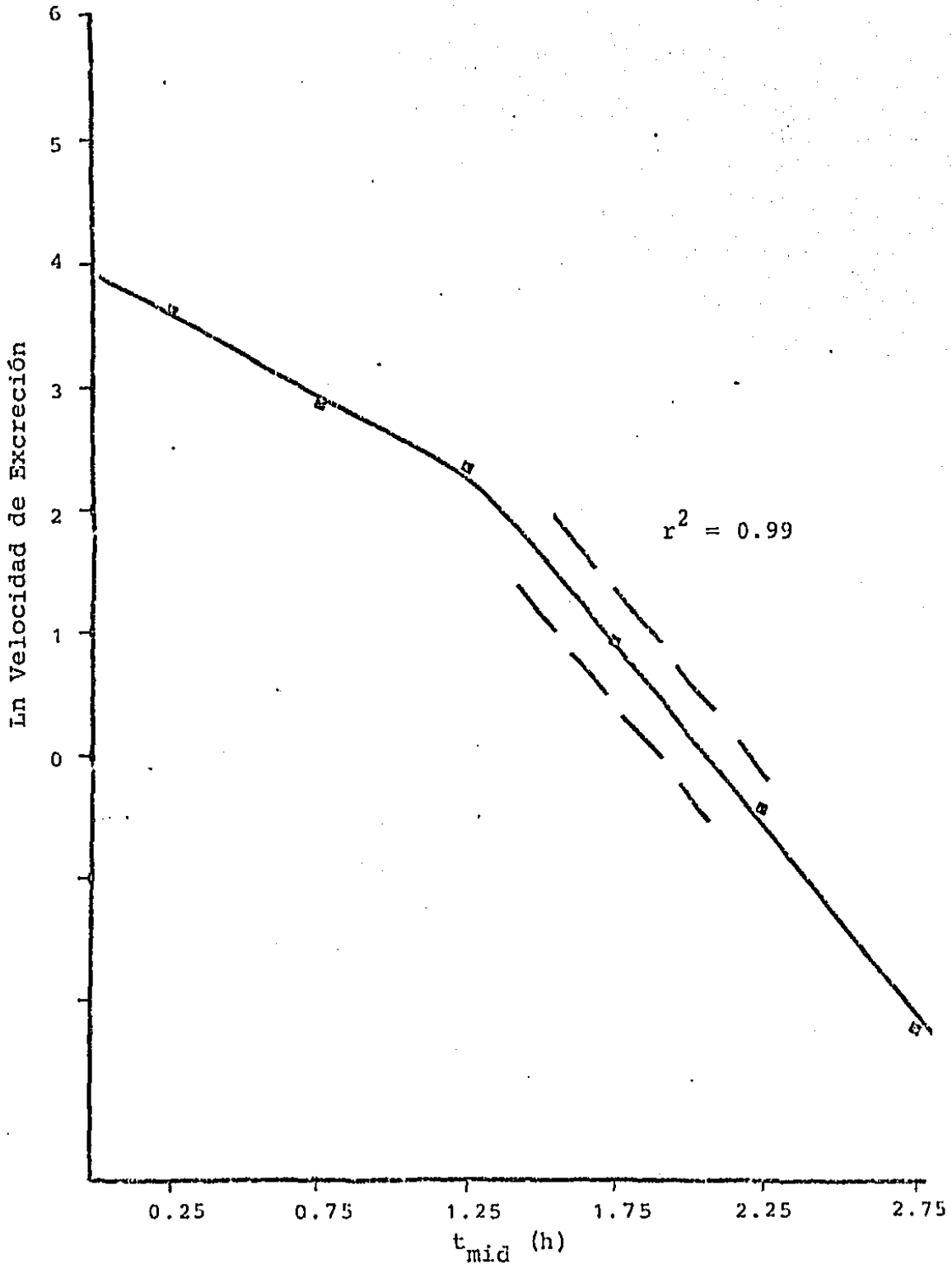


Figura No. 6 - Gráfica del logaritmo de la velocidad de excreción contra tiempo (t_{mid}) después de una administración I.V. de 50 mg de NTP a un voluntario sano. (Las líneas punteadas indican los límites de confianza del 95% con respecto a los cuatro últimos puntos).

para cada punto experimental se muestra mas-menos una S de la determinación analítica, por medio de regresión lineal de los cuatro últimos puntos se obtuvo un coeficiente de determinación de 0.997 ($p < 0.01$). La ecuación de la línea recta, de los cuatro últimos puntos considerando los intervalos del 95% de confianza $(57) \frac{\Delta Ae}{\Delta t} = 0.043 \pm 0.386 - (2.95 \pm 0.516) t_{mid}$, la vida media con un intervalo de confianza del 95% fué de 11.9 min. a 17 min.

Al correlacionar los datos de $(1 - \frac{\lambda e}{\lambda e_{\infty}}) \times 100$ contra tiempo se obtiene un coeficiente de correlación mejor ($r = 0.998$) con los cuatro últimos puntos y una vida media de 13.32 min.

En la Figura No. 7 se presenta la gráfica de la cantidad acumulativa excretada contra tiempo.

4.4.5.2 Administración oral de una solución acuosa de Nitrofurantoina.

Se siguió el protocolo marcado en 3.3.3.2 realizándose por triplicado el análisis de la solución de Nitrofurantoina administrada, por el método descrito en 3.3.1.3.5. Se encontró un valor promedio de 99.9 ± 2.7 mg para cada 100 ml. La Tabla XXVIII muestra los datos promedio de la excreción urinaria de la NTF para este estudio, (la velocidad de excreción, cantidad acumulativa y el porcentaje por ser excretado). La cantidad acumula

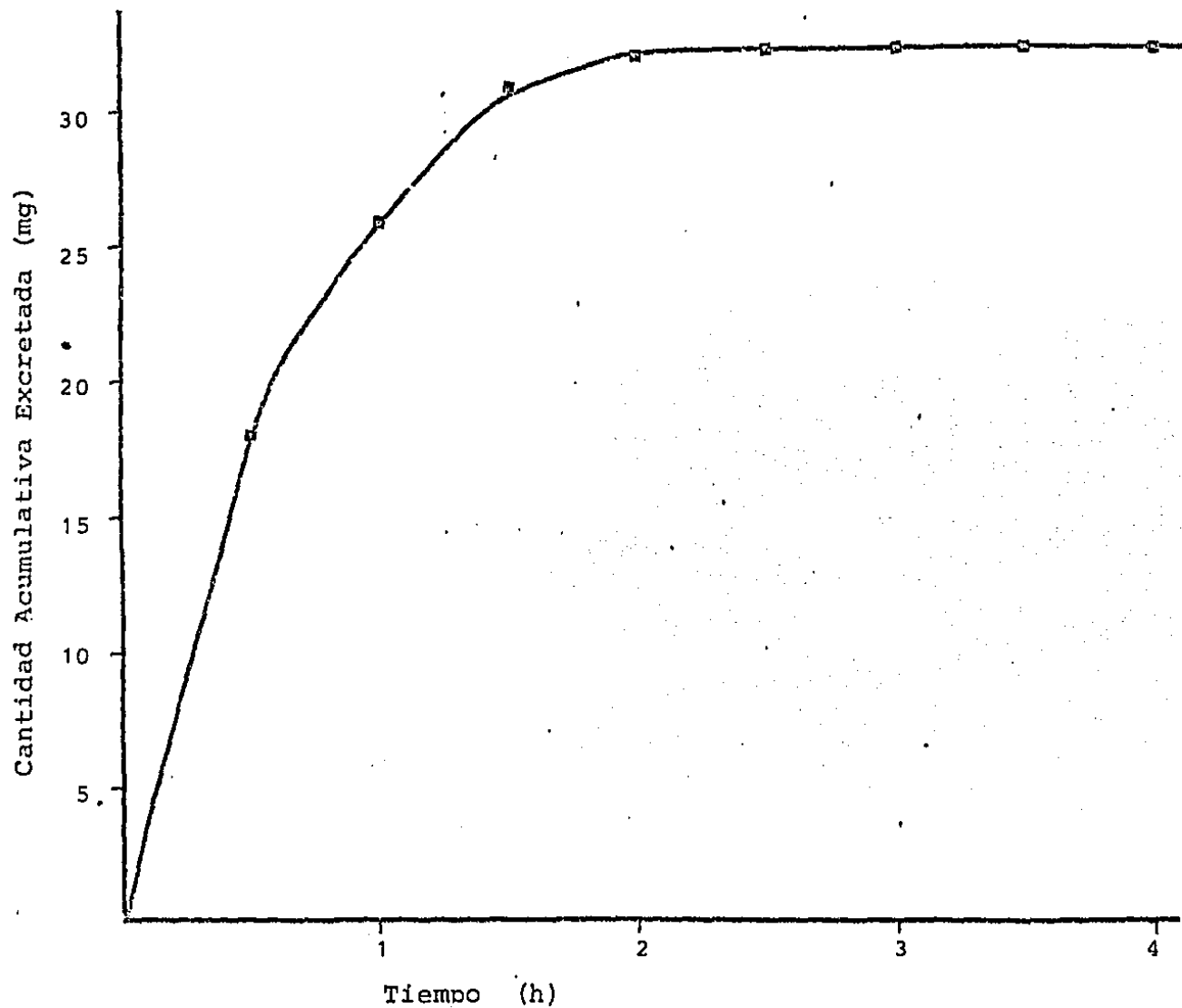


Figura No. 7 - Gráfica de la cantidad acumulativa excretada contra tiempo después de una administración I.V. de 50 mg de Nitrofurantoína a un voluntario sano.

TABLA XXVIII. DATOS PROMEDIO DE LA EXCRECION URINARIA
DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE 100
MG DE NTF EN SOLUCION ACUOSA, A 3 VOLUN-
TARIOS SANOS.

t	$\frac{\Delta Ae}{\Delta t}$ (mg/h)		Ae (mg)		$(1 - \frac{Ae}{Ae_{7.0}}) \times 100$	
	media	S	media	S	media	S
.0-0.5	14.16	(4.09)	7.08	(0.05)	83.39	(24.14)
.5-1.0	15.49	(3.63)	14.33	(3.86)	66.39	(17.88)
.0-1.5	18.65	(2.14)	24.15	(4.92)	56.65	(11.54)
.5-2.0	13.87	(3.34)	31.10	(4.06)	27.02	(3.52)
.0-2.5	9.50	(5.37)	35.97	(2.37)	15.62	(1.03)
.5-3.0	7.16	(4.67)	39.55	(2.26)	7.22	(0.41)
.0-3.5	2.65	(1.52)	40.88	(2.81)	4.11	(0.28)
.5-4.0	1.37	(1.02)	41.56	(3.30)	2.36	(0.19)
.0-4.5	1.02	(0.75)	42.07	(3.53)	1.20	(0.10)
.5-5.0	0.78	(0.14)	42.33	(3.68)	0.82	(0.06)
.0-5.5	0.30	(0.21)	42.50	(3.76)	0.34	(0.03)
.5-6.0	0.24	(0.09)	42.57	(3.77)	0.08	(0.01)
.0-7.0	0.10	(0.04)	42.63	(3.79)	0.00	-

t : tiempo de toma de muestra (h)

$\frac{Ae}{t}$: velocidad de excreción (mg/h)

Ae : cantidad acumulativa excretada (mg)

$(1 - \frac{Ae}{Ae_{7.0}}) \times 100$: por ciento remanente para ser excretado a las 7 h.

tiva excretada promedio fué de $42,63 \pm 3,79$ (mg) lo cual se observa en el valor asintótico de la Figura No.8.

La Figura No. 9 muestra una gráfica de los valores medios del logaritmo de la velocidad de excreción contra tiempo, la línea recta terminal tiene una pendiente, cuya media es de 38.1 min, y por análisis de regresión lineal da un coeficiente de determinación de 0.988; por el método de los residuos (52) se obtuvo una constante de primer orden con una vida media de 17 min, con un coeficiente de determinación lineal de 0.986.

En la Figura No. 10 se gráfico el logaritmo del porcentaje remanente promedio ($\pm S$) para ser excretado contra tiempo. Se observa, un tiempo de vida media de 33.5 min y 17.9 min. para el proceso exponencial más lento y más rápido, respectivamente.

4.4.5.3 Administración del producto innovador.

Se siguió el protocolo experimental descrito en 3.3. 3.3, en la Tabla XXIX se indican los valores promedios ($\pm S$) (velocidad de excreción de la NTF, la cantidad acumulativa excretada y el porcentaje remanente para ser excretado). La cantidad acumulativa excretada hasta 24 hs fué de 34.064 ± 8.64 mg, la Figura No. 11 muestra la gráfica de la cantidad acumulativa promedio contra tiempo.

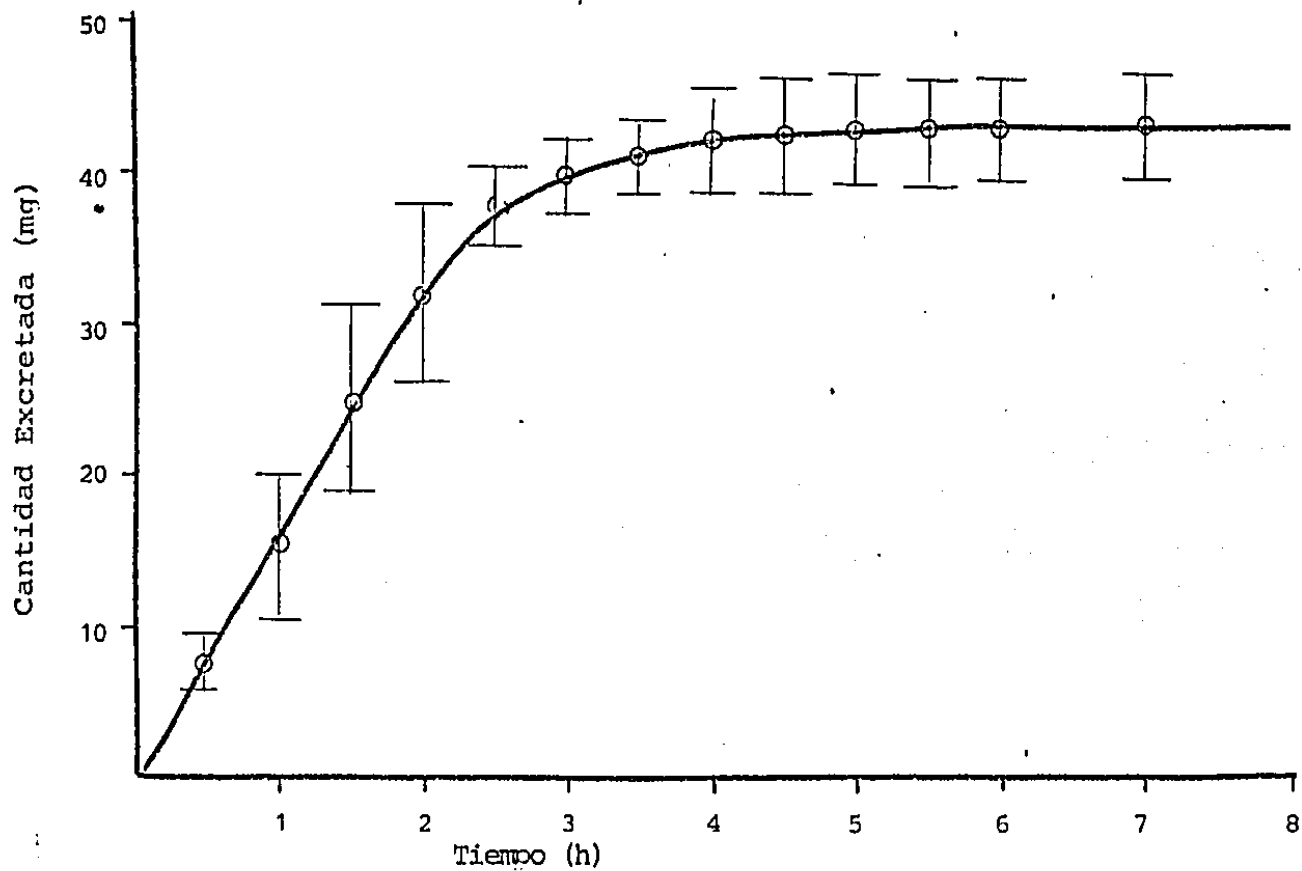


Figura No. 8 - Promedio \pm S de la cantidad acumulativa excretada, después de la administración oral de una solución de Nitrofurantoina (n = 3) D = 100 mg.

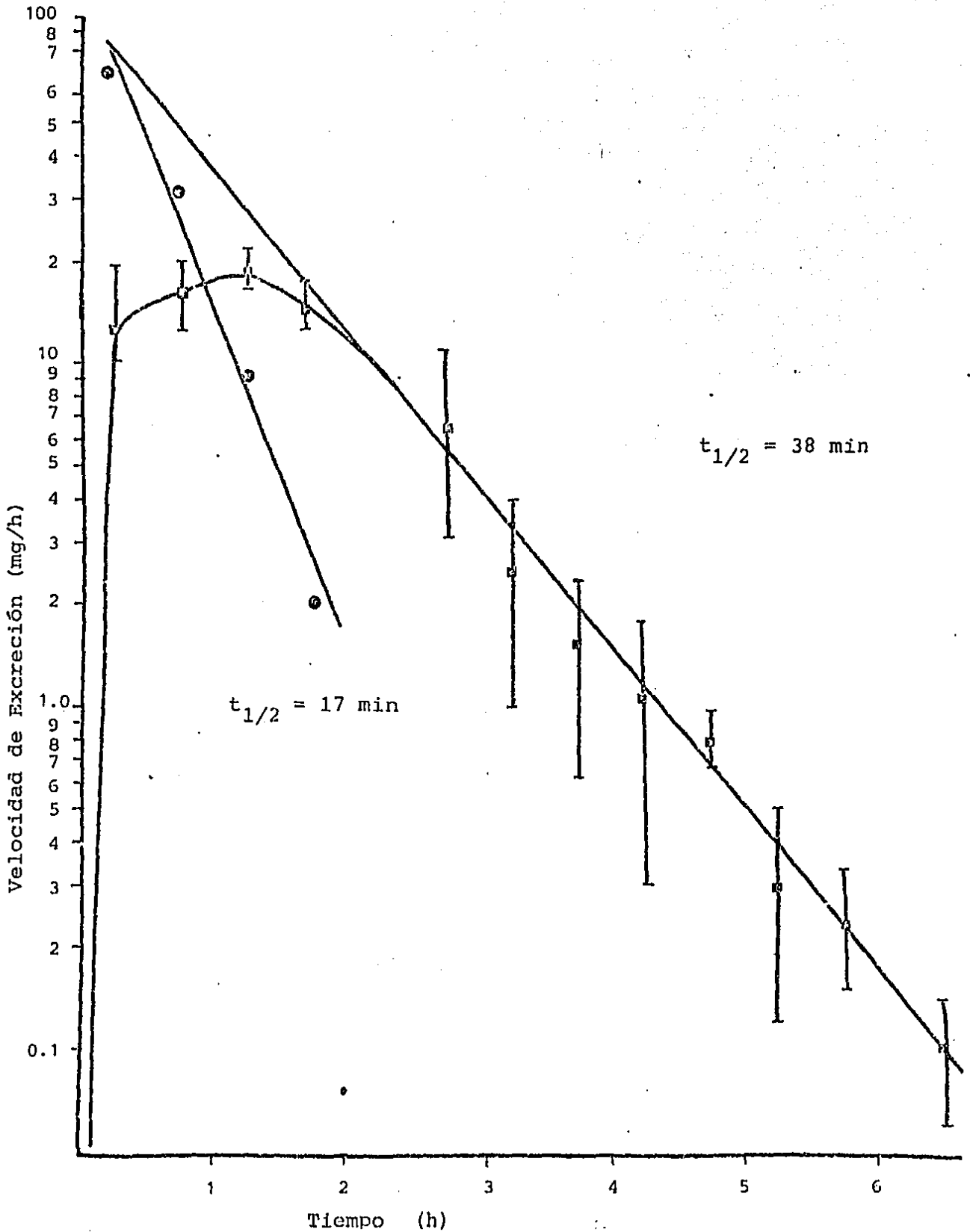


Figura No. 9 - Gráfica del logaritmo de la velocidad de excreción urinaria promedio VS tiempo (t_{mid}) después de la administración oral de 100 mg de Nitrofurantoina en solución a 3 voluntarios sanos.

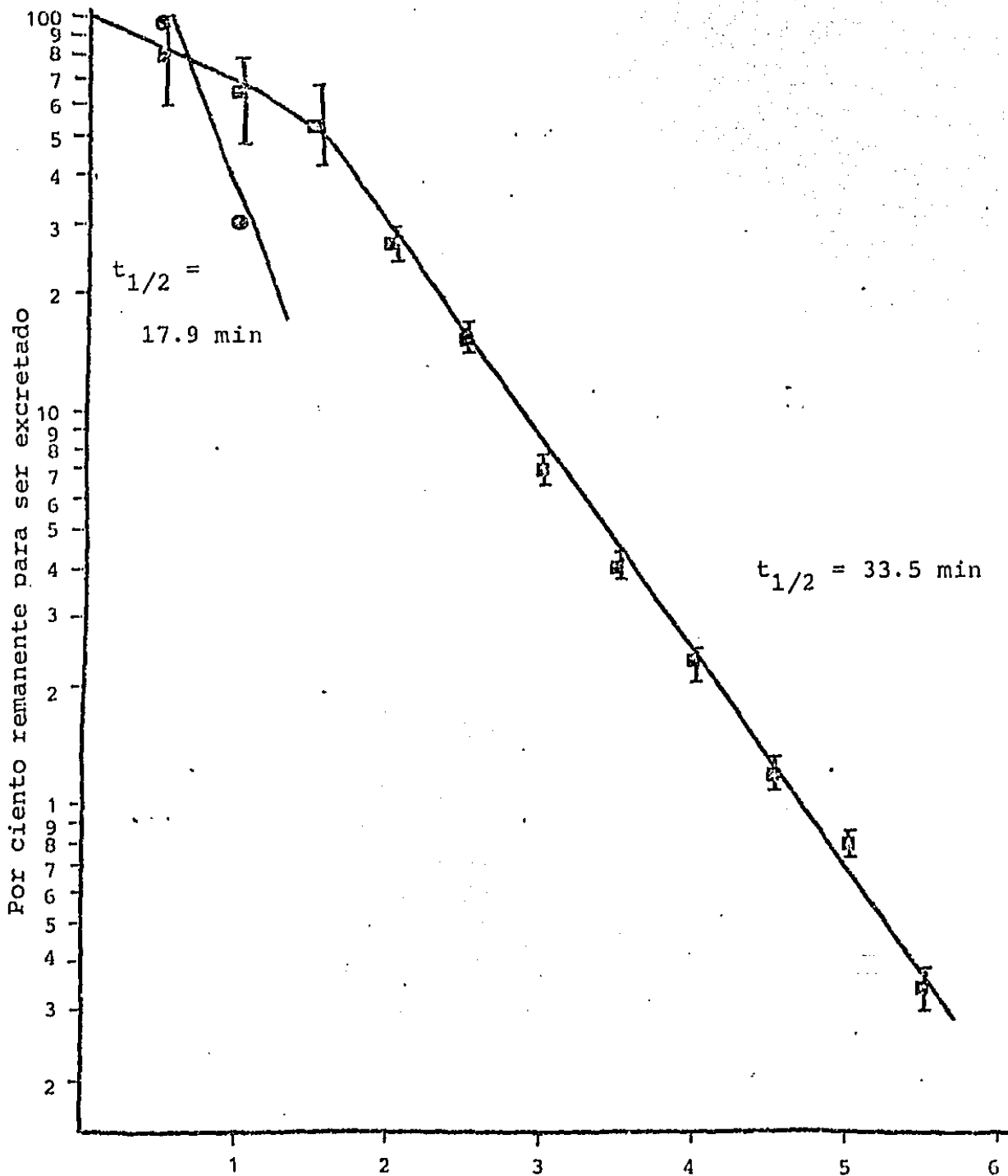
(Las barras verticales indican $\pm 1 S$)

Figura No. 10 - Gráfica del porcentaje remanente para ser excretado contra tiempo, después de la administración oral de una solución de 100 mg/100 ml de Nitrofurantoina a tres voluntarios.

TABLA XXIX. PROMEDIO DE DATOS URINARIOS DESPUES DE LA
ADMINISTRACION ORAL DE FURADANTIN^R A 6
VOLUNTARIOS SANOS.

Inter- valo (h)	$\frac{\Delta Ae}{\Delta t}$ (mg/h)		Ae (mg)		$(1 - \frac{Ae}{Ae_8}) \times 100$	
	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S
0.0-0.5	4.116	(4.206)	2.057	(2.102)	93.96	(96.01)
0.5-1.0	7.055	(7.246)	4.762	(5.231)	86.69	(95.22)
1.0-1.5	7.331	(5.964)	7.659	(7.962)	79.62	(79.65)
1.5-2.0	6.931	(2.398)	11.125	(9.149)	67.34	(55.37)
2.0-2.5	9.444	(4.043)	15.710	(10.304)	53.88	(35.33)
2.5-3.0	8.391	(3.848)	19.855	(11.423)	41.71	(24.00)
3.0-4.0	6.830	(3.171)	26.701	(10.991)	21.61	(8.48)
4.0-5.0	4.533	(2.318)	29.355	(10.247)	13.82	(4.82)
5.0-6.0	2.304	(2.542)	32.951	(9.249)	3.26	(0.91)
6.0-7.0	1.112	(0.592)	33.748	(8.723)	0.92	(0.23)
7.0-8.0	0.374	(0.372)	34.064	(8.480)	0.00	-
8.0-12.0	-	-	-	-	-	-
12.0-24.0	-	-	-	-	-	-

$\frac{\Delta Ae}{\Delta t}$: velocidad de excreción mg/h

Ae : cantidad acumulativa excretada

$(1 - \frac{Ae}{Ae_8}) \times 100$: por ciento remanente por ser excretado.

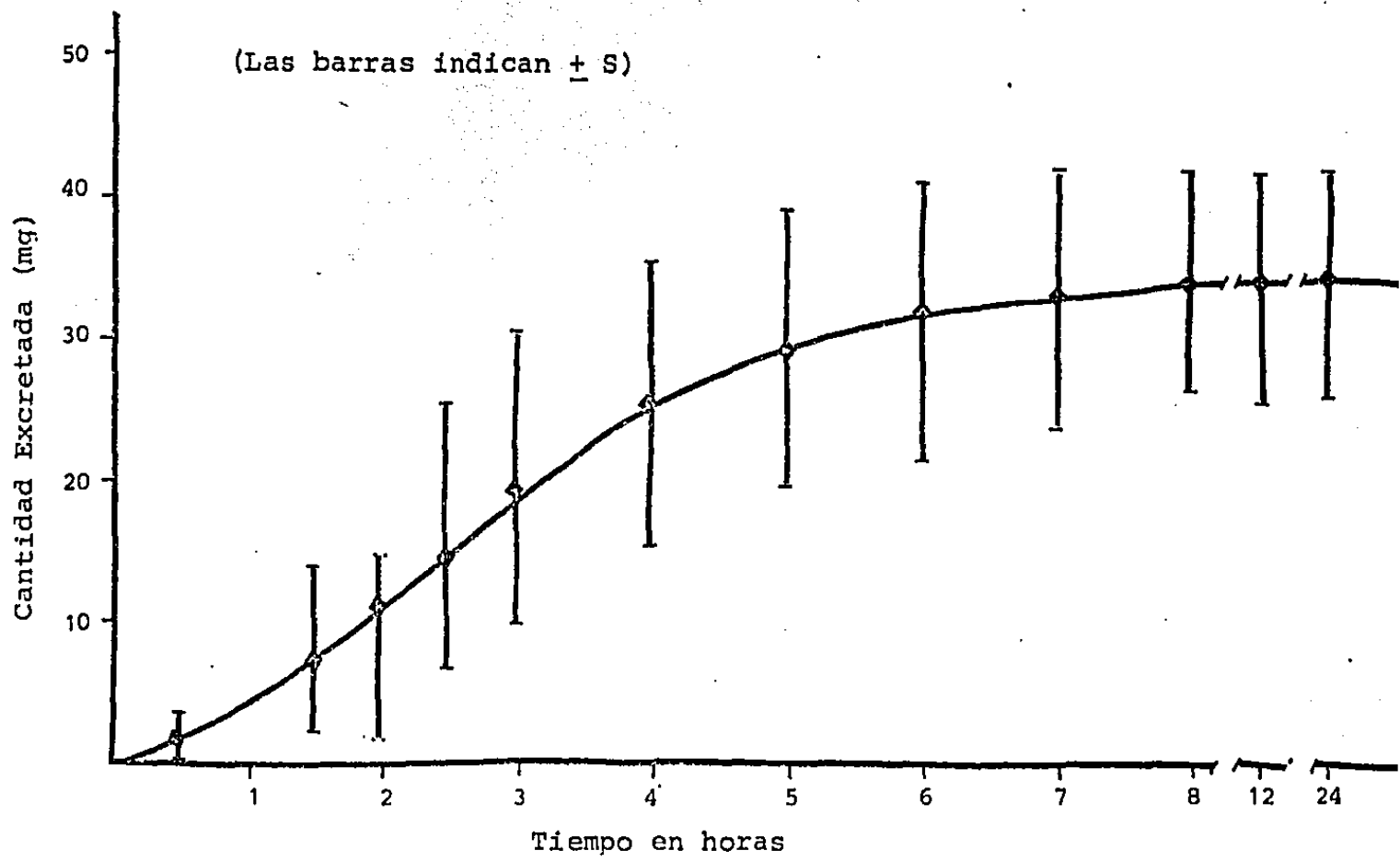


Figura No. 11 - Gráfica de la cantidad acumulativa promedio excretada de 0 a 24 h. en seis voluntarios, después de la administración p.o. del producto innovador (D = 100 mg).

La Figura No. 12 muestra una gráfica de velocidad de excreción de NTF promedio (de seis voluntarios) contra tiempo, la pendiente de la línea recta final da una vida media de 27.1 min. ($r^2 = 0.976$) al aplicar el método de los residuos (52) a los datos experimentales promedio se obtuvo un nuevo segmento de línea recta con cinco puntos, que da un valor de vida media de 39.1 min. ($r^2 = 0.986$).

En la Figura No. 13 se presenta la gráfica de porcentaje remanente para ser excretado de NTF promedio contra tiempo; la vida media de la fase logarítmica lineal fué de 43.1 min ($r^2 = 0.965$).

Al aplicar el método de los residuos (52) se obtuvo una línea recta con 5 puntos, cuya pendiente dió un valor de vida media de 31.0 min ($r^2 = 0.99$). Al promediar los parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos de la fase logarítmico-lineal por el método de sigma menos y por el método de los residuos (52), se encontró una vida media de la pendiente de la línea recta final de 48.1 min (± 11.11 min) y un coeficiente de determinación promedio de regresión lineal de 0.965; y por el método de los residuos el promedio de vidas medias fué de 26.1 min (± 3.1 min), ($r^2 = 0.996$).

4.4.5.4 Estudio cruzado de Dos vías: pro-

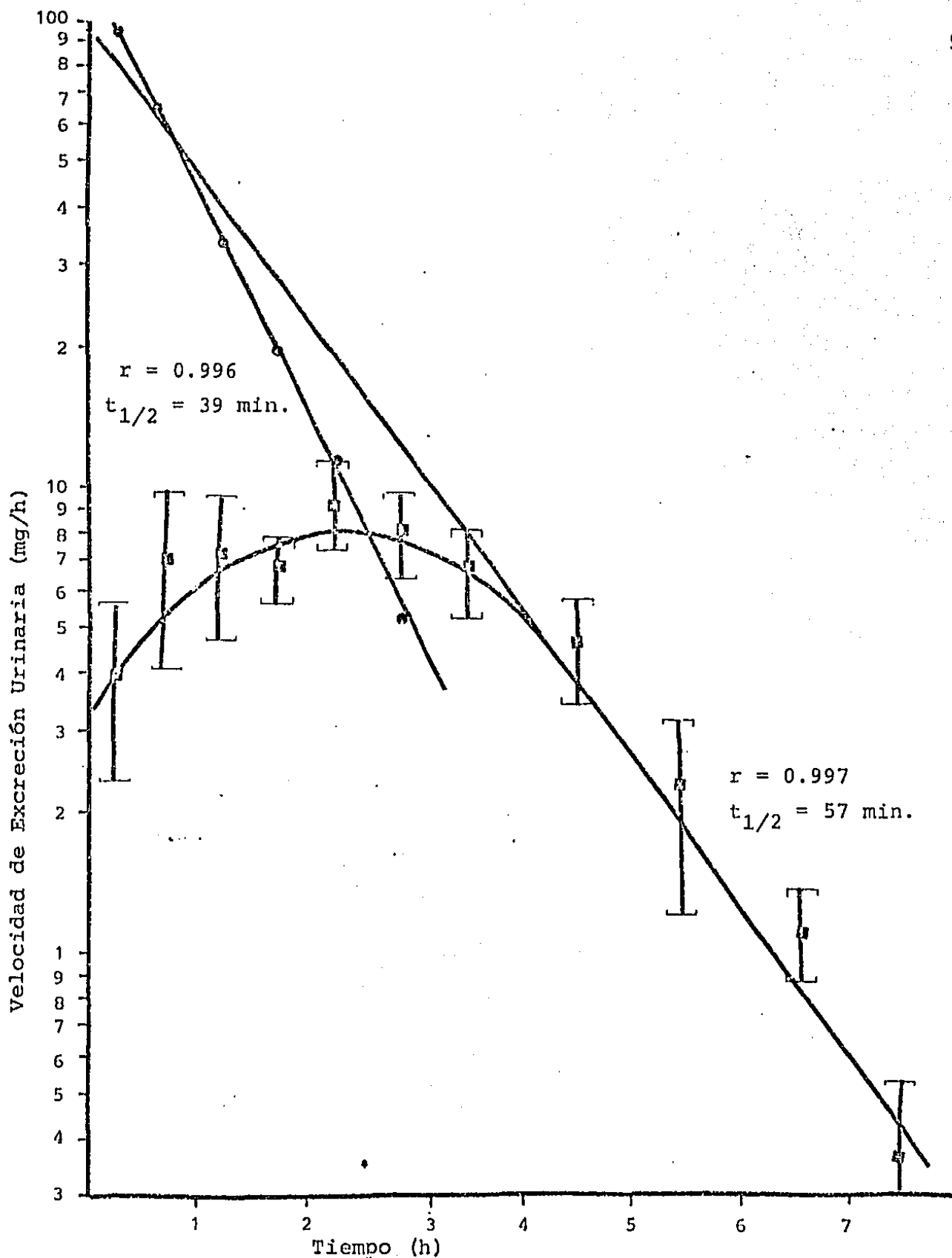


Figura No. 12 - Gráfica logarítmico de la velocidad de excreción promedio, después de la administración oral del producto innovador Furadantin^(R) a seis voluntarios (D = 100 mg).

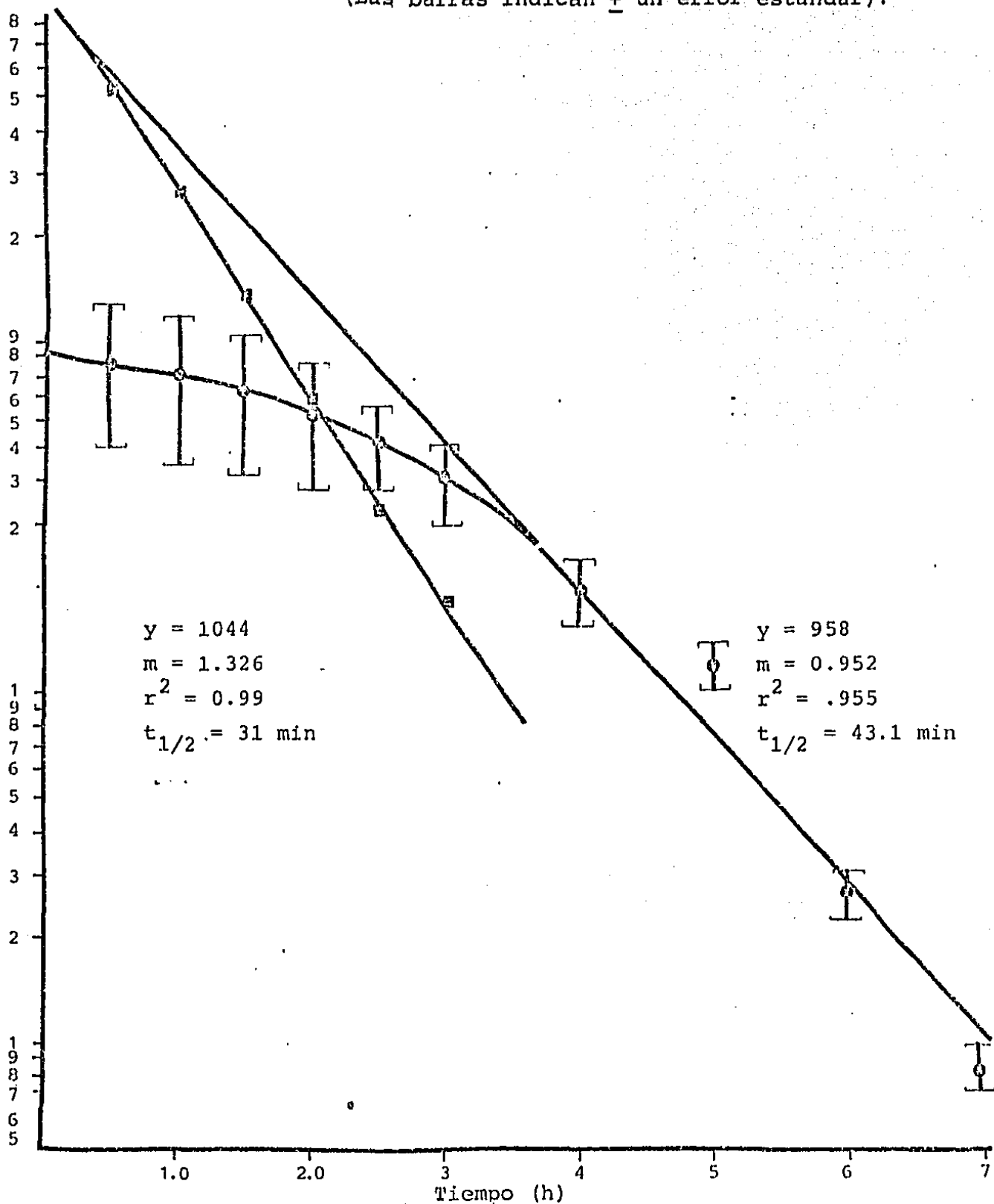


Figura No. 13 - Gráfica del logaritmo del porcentaje de Nitrofurantoina para ser excretada después de la Administración oral del Furadantin^(R) a seis voluntarios sanos (D = 100 mg).

ducto innovador contra producto D.

Se siguió el protocolo descrito en 3.3.4., en las Tablas XXX y XXXI se presentan los valores promedios de la excreción de NTF a partir de la administración del producto D y el producto innovador, respectivamente.

Se graficaron en papel semilogarítmico los valores promedio de las velocidades de excreción de NTF contra t mid para los dos productos (Ver Figura No. 14). Los correspondientes valores medios \pm S de la cantidad acumulativa excretada de NTF contra tiempo se muestran en la Figura No. 15. En la Figura No. 16 se presenta una gráfica en papel similogarítmico de porcentaje remanente para ser excretado \pm S contra tiempo para los dos productos.

A partir de las fases logarítmico lineales de las gráficas de sigma menos (Σ^-) Figura No. 16 se estimaron las vidas medias y coeficientes de determinaciones de regresión lineal, así como también las vidas medias y coeficientes de determinación de regresión lineal para la fase residual(52), los promedios y desviaciones estándar de los parámetros farmacocinéticos de los productos A y D se presentan en la Tabla XXXII.

4.4.5.5 Bioequivalencia de seis productos.

Se estudió la biodisponibilidad de la Nitrofurantoina a partir de los productos E, I, B, D, F y A, donde el pro

TABLA XXX. VALORES PROMEDIO DE LA EXCRECION URINARIA DE NTF A PARTIR DE LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO "D" A 4 VOLUNTARIOS SANOS (ESTUDIOS 2x2).

Inter- valo (h)	$\frac{\Delta Ae}{\Delta t}$ (mg)		Ae (mg)		$(1 - \frac{Ae}{Ae_{10}}) \times 100$	
	\bar{X}	S	\bar{X}	S	\bar{X}	S
0.0-0.5	1.77	(1.24)	0.88	(0.62)	94.71	(66.72)
0.5-1.0	3.38	(1.62)	2.62	(1.24)	84.26	(39.87)
1.0-1.5	4.58	(2.53)	4.91	(2.47)	70.51	(35.47)
1.5-2.0	5.38	(3.45)	7.60	(4.90)	54.35	(29.24)
2.0-2.20	4.36	(2.22)	12.23	(5.92)	26.65	(12.9)
3.0-4.5	1.98	(1.23)	15.14	(6.66)	9.07	(3.99)
4.5-6.0	0.68	(0.64)	16.32	(6.13)	1.98	(0.74)
6.0-8.0	0.17	(0.09)	16.62	(5.95)	0.18	(0.06)
6.0-10.0	0.07	-	16.65	(5.91)	0.00	-

$\frac{\Delta Ae}{\Delta t}$; Ae ; $(1 - \frac{Ae}{Ae_{10}}) \times 100$: como en la Tabla XXIX.

TABLA XXXI. VALORES PROMEDIO DE LA EXCRECION URINARIA DE NTF A PARTIR DE LA ADMINISTRACION DEL PRODUCTO INNOVADOR EN 4 VOLUNTARIOS SANOS (ESTUDIO 2 x 2).

Inter- valo (h)	$\frac{\Delta Ae}{\Delta t}$ (mg/h)		Ae (mg)		$(1 - \frac{Ae}{Ae_{10}}) \times 100$	
	\bar{X}	S	\bar{X}	S	$\frac{Ae}{\bar{X}} \times 100$	S
0.0	-	-	-	-	-	-
0.0-0.5	1.77	(1.24)	0.88	(0.62)	94.75	(65.62)
0.5-1.0	2.55	(1.11)	2.62	(1.24)	92.60	(38.87)
1.0-1.5	11.32	(4.51)	9.11	(3.29)	74.26	(36.47)
1.5-2.0	11.73	(2.56)	15.22	(3.28)	56.99	(25.24)
2.0-3.0	9.04	(2.07)	23.43	(4.07)	33.79	(13.90)
3.0-4.5	6.05	(1.88)	31.84	(3.86)	10.03	(3.89)
4.5-6.0	1.46	(1.29)	34.68	(4.05)	1.97	(0.54)
6.0-8.0	0.75	(0.50)	35.32	(3.24)	0.19	(0.08)
8.0-10.0	0.11		35.39	(4.25)	0.00	-

$\frac{\Delta Ae}{\Delta t}$; Ae; $(1 - \frac{Ae}{Ae_{10}}) \times 100$. como en la Tabla XXIX.

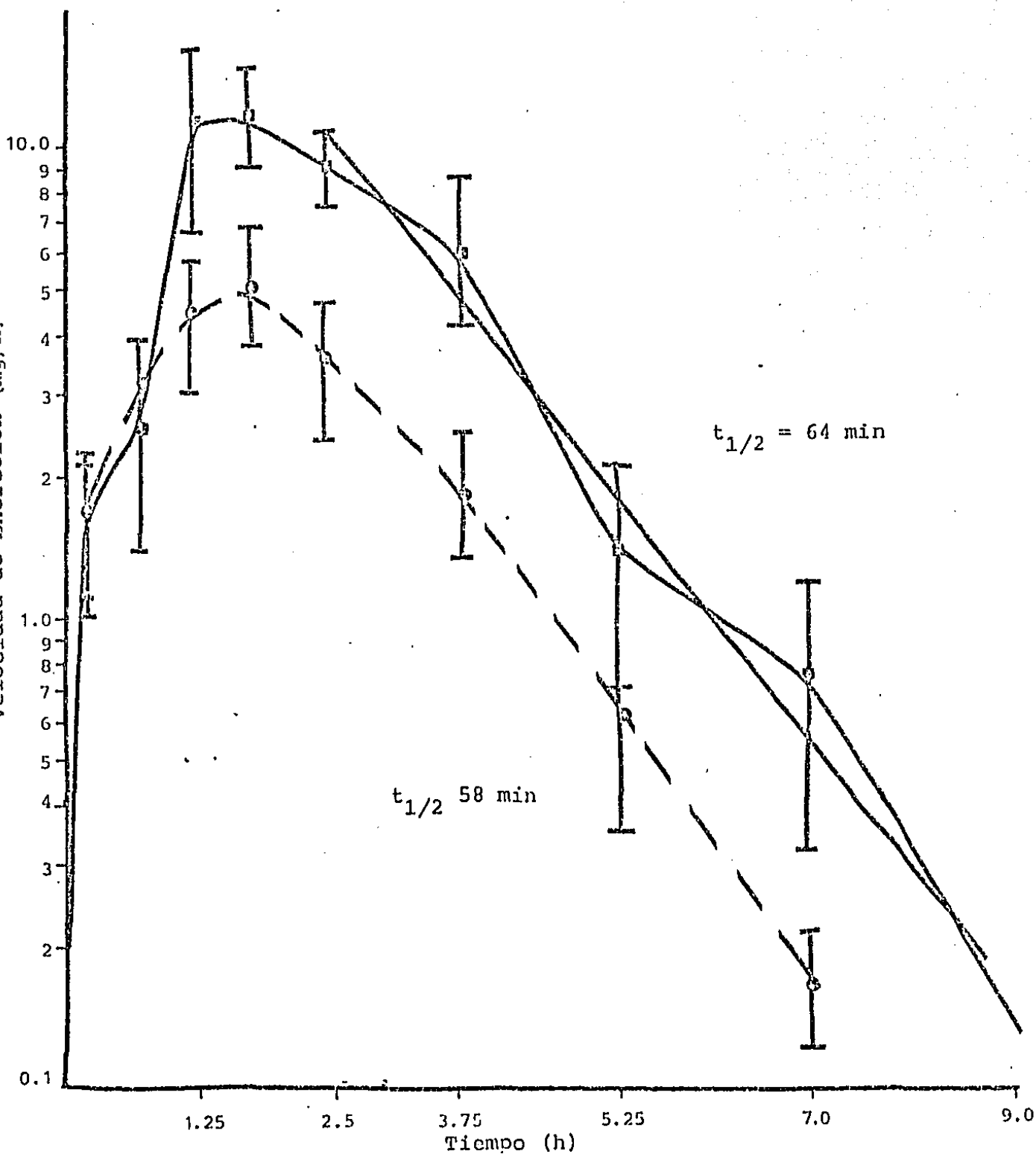


Figura No. 14 Velocidad de Excreción Promedio vs t_{mid} en Cuatro Voluntarios Sanos. Producto Innovador (A) vs Producto "D" (D). (Las barras verticales indican \pm error estándar de la media).

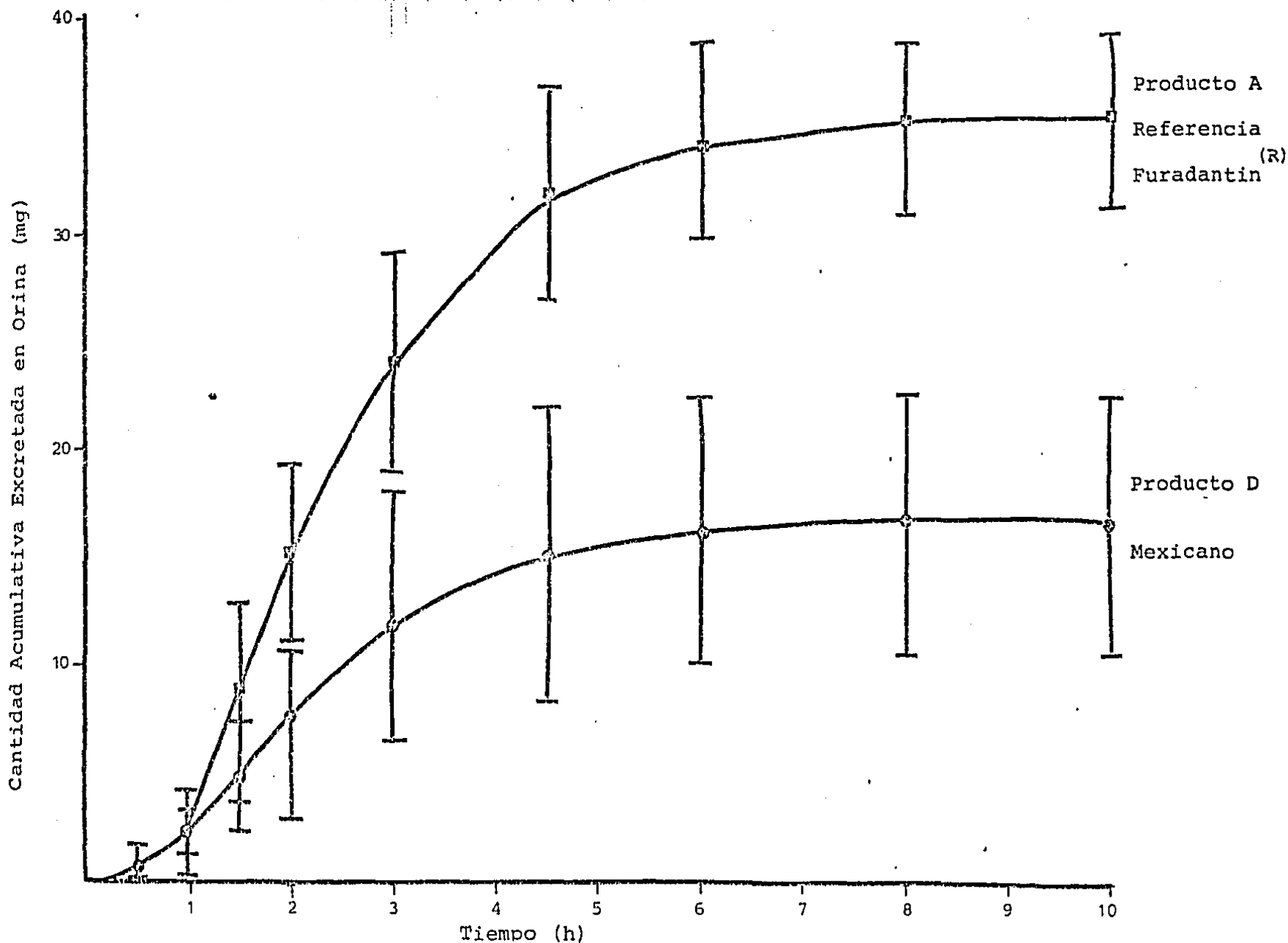


Figura No. 15 - Gráfica de la cantidad acumulativa de Nitrofurantoina Excretada en Orina de 0 a 10 hrs., (\pm S) después de la administración del Producto "D" Nacional e Innovador (Furadantin, D = 100 mg, n = 4).

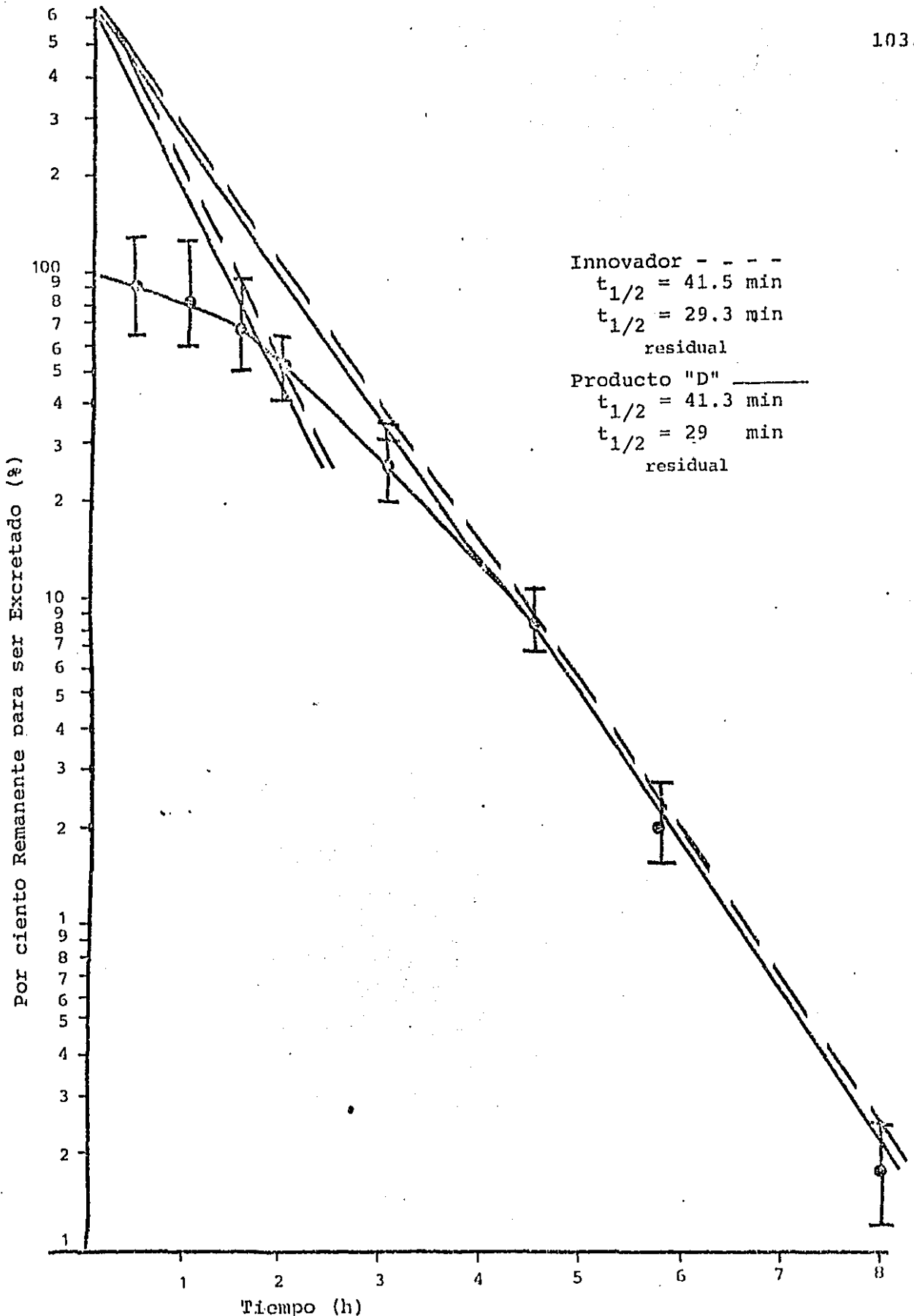


Figura No. 16 - Gráfica del logaritmo del porciento remanente para ser excretado contra tiempo, Producto -- Innovador contra producto "D".

TABLA XXXII. PARAMETROS PROMEDIO OBTENIDOS DE LA FASE LOGARITMICO LINEAL (SIGMA MENOS) Y POR EL METODO DE LOS RESIDUOS, DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DEL PRODUCTO INNOVADOR Y DE PRODUCTO "D" (de la Figura No. 16).

	FURADANTIN		Producto D	
	Fase lineal final	Residual	Fase lineal final	Residua 1
Tiempo de vida media (min)	100	27	52	28
Desv. estandar	13	11	7	8
Coef. de determinación	0.995	0.996	0.997	0.996

ducto A es el producto innovador de E.U.A. y los otros cinco son de origen nacional. Esta fase se realizó en 6 voluntarios sanos, de sexo masculino, en ayunas, como ya se mencionó en 3.3.3.5, el diseño experimental fué completamente cruzado, doble ciego. Los datos promedio de excreción urinaria de cada producto aparecen en el Apéndice IV. La gráfica de los valores promedio de las velocidades de excreción urinaria de la NTF contra t_{mid} , en papel semilogarítmico, para los 6 productos se muestra en la Figura No. 17. En la Figura No. 18 se muestra la gráfica del logaritmo del porcentaje remanente para ser excretado de NTF promedio, contra tiempo para los seis productos. Se calcularon las vidas medias promedio y coeficientes de determinación a partir de los datos individuales, estos parámetros se presentan en las Tablas XXXIII y XXXIV para cada producto. La Figura No. 19 muestra la gráfica de la cantidad acumulativa promedio de NTF excretada en orina para los seis productos, el producto innovador produjo una cantidad acumulativa excretada a las 10 hs. de 34.79 ± 4.99 mg y los productos farmacéuticos nacionales estudiados produjeron cantidades en orina menores. La Figura No. 20 muestra la gráfica de concentraciones promedio de NTF en orina contra tiempo para cada uno de los productos estudiados.

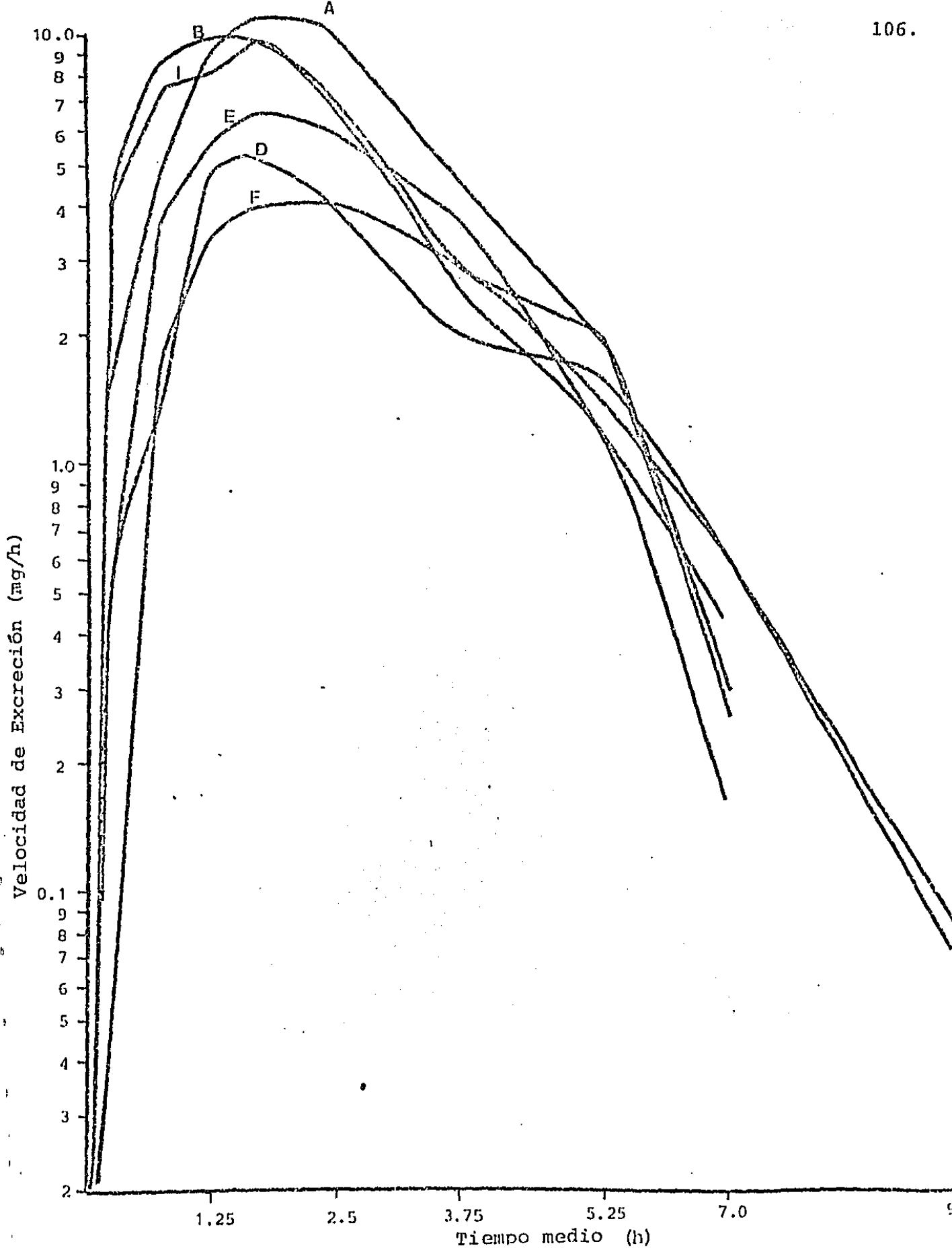


Figura No. 17 - Velocidad de excreción promedio vs t_{mid} en seis voluntarios. Bioequivalencia de seis Productos de Nitrofurantoina.

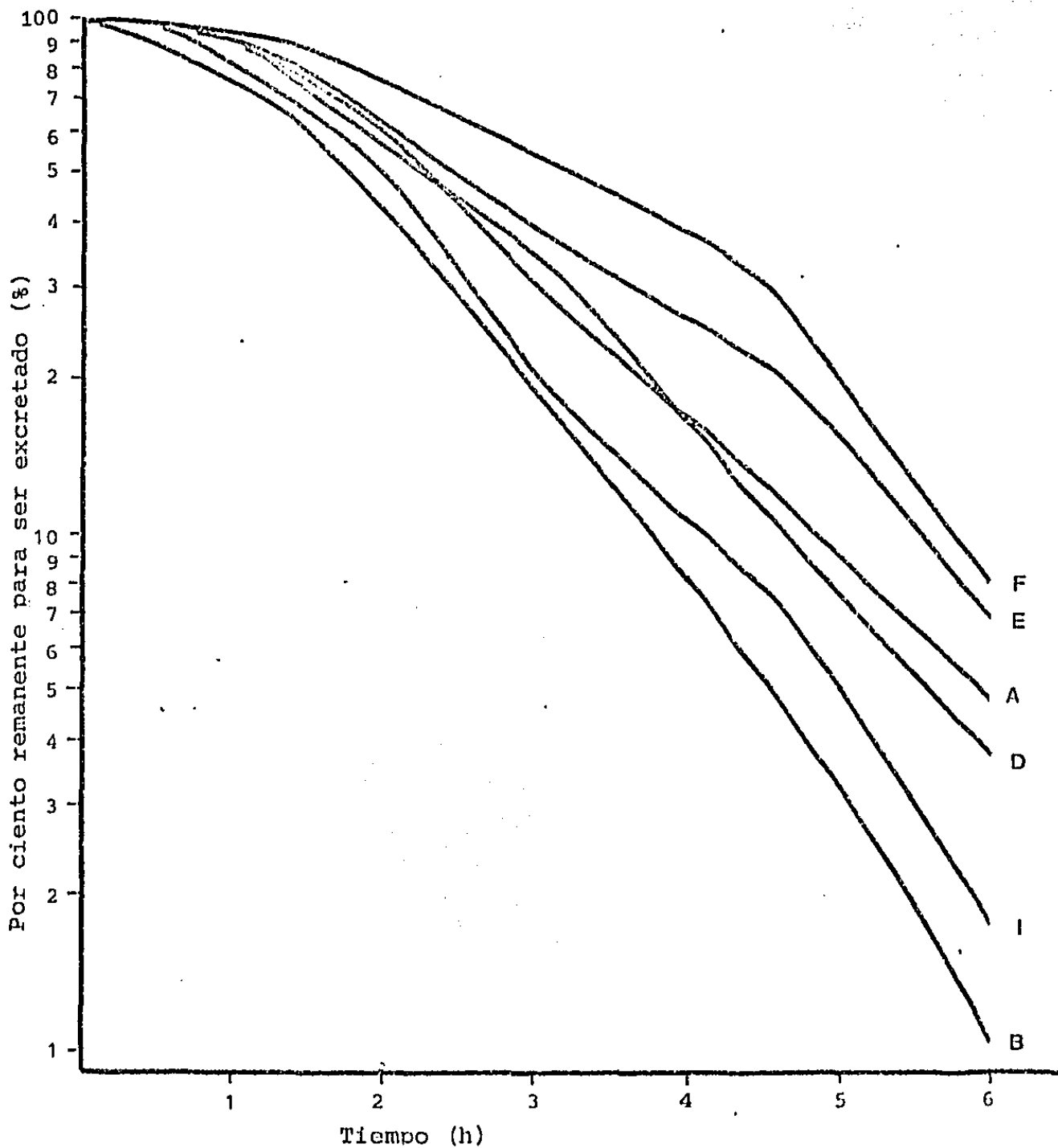


Figura No. 18. Gráfica del porcentaje remanente para ser excretado de NTP contra tiempo. Bioequivalencia de seis productos.

TABLA XXXIII. PARAMETROS OBTENIDOS DE LA FASE LOGARITMICO LINEAL DEL POR CIENTO REMANENTE PARA SER EXCRETADO Y POR EL METODO DE LOS RESIDUOS A PARTIR DEL PROMEDIO DE LOS DATOS DE CADA PRODUCTO. BIOEQUIVALENCIA DE SEIS PRODUCTOS.

Producto	Fase lineal final		Residual	
	$t_{1/2}$	$\frac{2}{2}$	$t_{1/2}$	$\frac{2}{2}$
A	1 h 5 min.	0.996	23 min.	0.996
B	44 min.	0.988	20 min.	0.985
D	58 min.	0.997	21 min.	0.983
E	1 h 18 min.	0.976	23 min.	0.994
F	1 h 17 min.	0.965	30 min.	0.993
I	46 min.	0.988	22 min	0.998

A 0.640 h-1

E 0.528 h-1

B 0.928 h-1

F 0.532

D 0.707 h-1

I 1.443

TABLA XXXIV. PARAMETROS OBTENIDOS DE LA FASE LOGARITMICO LINEAL DE VELOCIDAD DE EXCRECION Y APLICACION DEL METODO DE LOS RESIDUOS A PARTIR DEL PROMEDIO DE LOS DATOS DE CADA PRODUCTO. BIOEQUIVALENCIA DE SEIS PRODUCTOS.

Producto	Fase lineal $t_{1/2}$	final r^2	Residual $t_{1/2}$	r^2
A	50 min	0.97	33 min	0.99
B	1 h 01 min	0.92	27 min	0.99
D	1 h 06 min	0.98	33 min	0.98
E	1 h 09 min	0.94	32 min	0.98
F	1 h 08 min	0.93	42 min	0.99
I	50 min	0.97	27 min	0.97

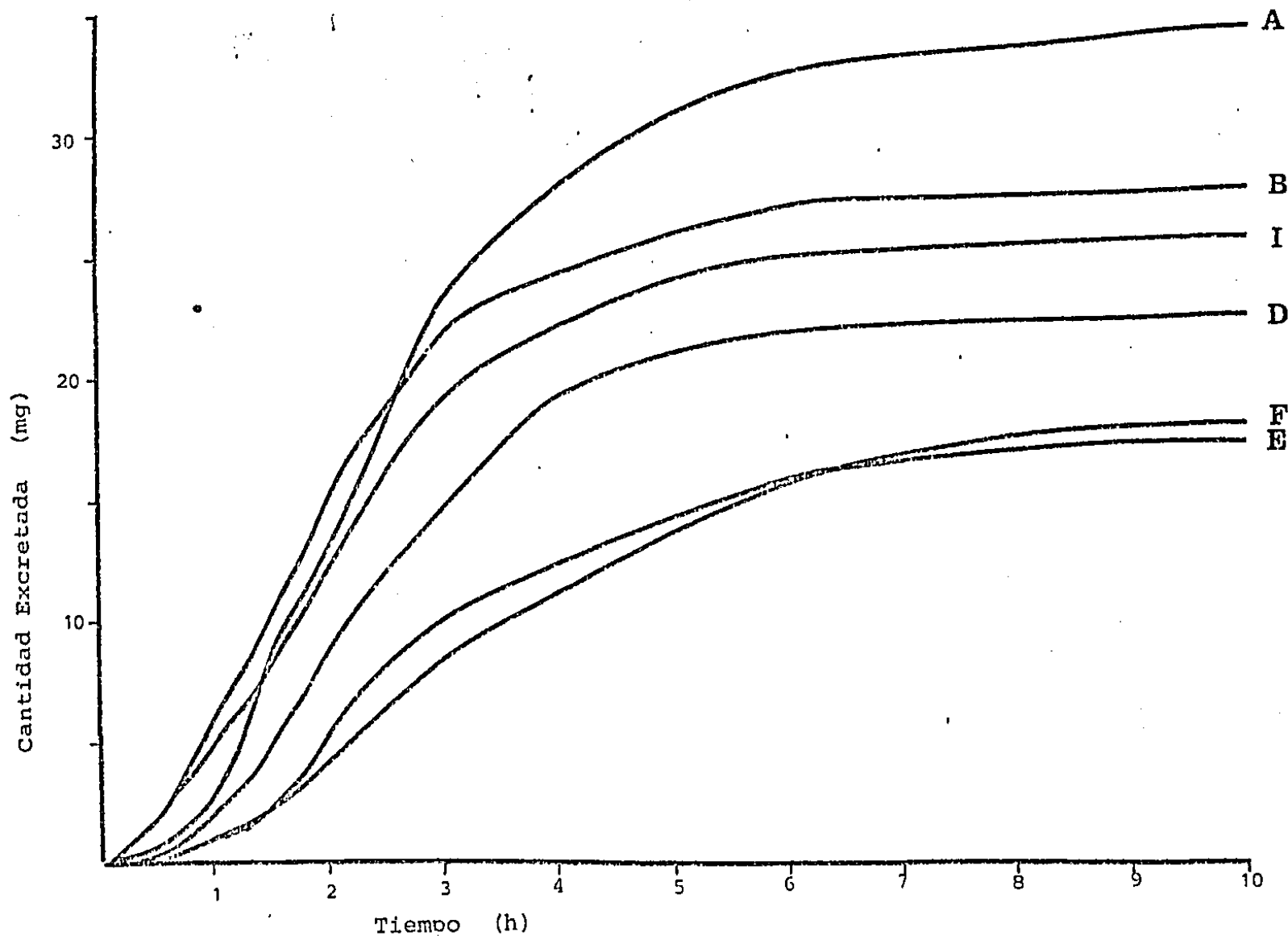
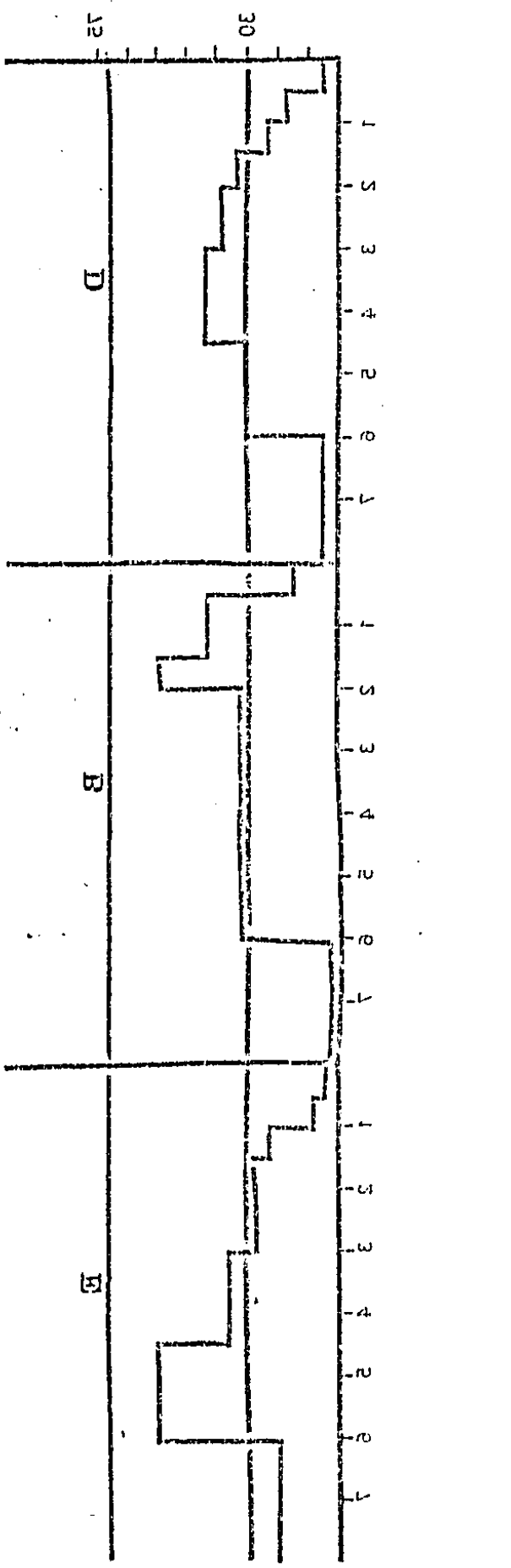
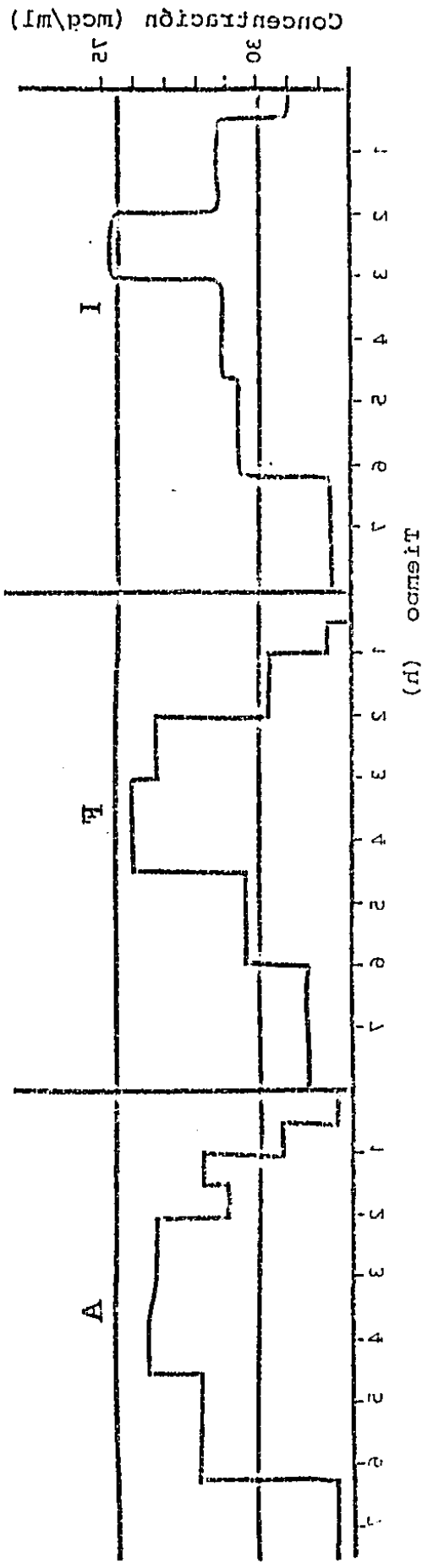


Figura No. 19 - Cantidad acumulativa excretada de Nitrorurantoína después de la administración oral de 6 productos de NTF. (cada línea es un promedio acumulativo de 6 voluntarios).

Figura No. 50. Gráficas de la concentración de nitrógeno en el tiempo para seis productos comerciales de nitrógeno.



V. DISCUSION.

5.1 Pruebas de control.

El límite estipulado por la USP XIX (23) para la prueba de desintegración es de 30 min para comprimidos, por lo tanto, a partir de los datos de la Tabla V se observa que el tiempo de desintegración del producto G (40.16 ± 4.95) es significativamente mayor de dicho límite, el tiempo de desintegración del producto C (27.3 ± 15.93) estadísticamente este valor no es mayor del límite indicado pero se encuentra cercano a él y con una desviación estándar muy elevada. Los tiempos de desintegración de los productos B, C, D, G e I de la misma forma farmacéutica que el producto innovador, comprimidos (ver Tabla V) son significativamente mayores que el tiempo de desintegración del producto innovador, tal característica podría indicar la biodisponibilidad no satisfactoria (4). Los comprimidos B y D tienen una dureza significativamente mayor que la del producto innovador, el producto D presenta la dureza más alta (ver Tabla V). De acuerdo con Wagner (4), la dureza de los comprimidos representa una causa de fallas de biodisponibilidad. La Farmacopea USP XIX y la FNEUM (50) indican que los comprimidos de Nitrofurantoina no deben contener menos del 95.0 por ciento y no más del 105.0 por ciento de la cantidad indicada

en el marbete de $C_8H_6N_4O_6$. Consecuentemente los productos C, E y G no cumplen esta especificación ya que los datos de contenido son de 92.1, 92.5 y 90.5 por ciento de Nitrofurantoina respectivamente (ver Tabla V). La prueba de variación de peso realizada a los productos indica que están dentro de las especificaciones marcadas por la USP XIX y la FNEUM (50). La prueba de variación de contenido se realizó sólo con tres muestras, para el producto C una de estas muestras contenía 84.9% para el producto F una contenía 92.9% y otra 93.6%, en el producto H dos muestras contenían 91.3% y para el producto G el contenido de cada una de las tres muestras fué de 90.0, 91.6 y 92.9%.

En resumen, de acuerdo a las especificaciones oficiales de contenido para comprimidos de NTF los productos C, E y G se encuentran fuera de ellas, además, los datos de variación de contenido indican que los productos F y H no cumplirían la prueba de acuerdo a las especificaciones de la USP XIX y FNEUM.

De esta manera, de ocho productos farmacéuticos estudiados en el comercio nacional sólo 3 cumplen con las especificaciones mencionadas en la Tabla V, los 5 restantes no las cumplen, por lo cual los lotes de estos productos (C, E, G, F y H) deberían ser retirados del mercado.

5.2 Estudios in vitro.

5.2.1 Determinación de Nitrofurantoina en solución reguladora de fosfatos 0.2 M, pH 7.2.

La determinación de Nitrofurantoina en solución reguladora de fosfatos 0.2 M, pH 7.2, por espectrofotometría, mostró linealidad entre las concentraciones de 0.5 a 25 mcg/ml, con coeficiente de correlación de 0.999 ($p < 0.001$) (ver Figura No. 1) y coeficiente de variación entre 28.16 a 1.97 por ciento en dicho intervalo de concentraciones (ver Tabla VI), el análisis estadístico por prueba de t entre la pendiente de cuatro curvas estándar (Tabla VII), indica que no hay diferencia significativa entre las pendientes de las mismas.

El método se evalúa considerando la reproducibilidad de las determinaciones, los datos de la Tabla VIII dan los valores promedio de las absorbancias de las determinaciones de diferentes concentraciones de Nitrofurantoina, preparadas el día de la determinación, se puede observar que el intervalo del coeficiente de variación es de 3.09 a 0.77% para las concentraciones de 1 a 25 mcg/ml respectivamente. El análisis de varianza de las determinaciones realizadas en diferentes días (ver Tabla XXXV), indicó que la variación en diferentes días es altamente significativa para las concentraciones de 1 y 2 mcg/ml, y no existe variación significativa en las determinaciones en

TABLA XXXV. REPRODUCIBILIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO DE NITROFURANTOINA EN SOLUCION REGULADORA DE FOSFATOS 0.2 M, pH 7.2 EN EL RANGO DE CONCENTRACION DE 1.0 A 25 MCG/ML.

Concen- tración	Fuente de variación	Análisis de varianza con una sola variable			
		SS x 10 ⁻⁵	gl	SM x 10 ⁻⁵	Nivel de sign.
1.0	entre día	5.758	3	1.919	p<0.0005
	dentro día	3.242	10	0.324	
2.0	entre día	5.643	2	2.821	p<0.0005
	dentro día	0.567	7	0.081	
4.0	entre día	40.07	1	40.017	N.S.
	dentro día	28.66	4	7.16	
6.0	entre día	43.36	1	43.36	N.S.
	dentro día	82.4	4	20.62	
10.0	entre día	261.6	4	65.4	N.S.
	dentro día	365.8	14	26.13	

SS : suma de cuadrados
 SM : cuadrado medio
 gl : grados de libertad
 N.S: no significativo.

TABLA XXXV. (CONTINUACION REPRODUCIBILIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO DE NITROFURANTOINA EN SOLUCION REGULADORA DE FOSFATOS 0.2 M, pH 7.2 EN EL RANGO DE CONCENTRACION DE 1.0 A 25 MCG/ML.

Concen- tración (mcg/ml)	Fuente de variación	Análisis de varianza con una sola variable			Nivel de Sign.
		SS x 10 ⁻⁵	gl	SM x 10 ⁻⁵	
20.0	entre día	453.75	1	453.75	N.S.
	dentro día	846.15	4	211.538	
25.0	entre día	624.22	1	624.22	N.S.
	dentro día	807.02	7	115.28	

diferentes días en las concentraciones de 25, 20, 10, 6 y 4 mcg/ml. Mediante una prueba de t entre las pendientes se encontró que las diferencias entre ellas no son significativas, a un nivel $\alpha = 0.05$.

La curva de Ringbom (49), Figura No. 2, indica que el intervalo de concentraciones en que la determinación de Nitrofurantoina tiene la máxima precisión, se encuentra entre 2 y 15 mcg/ml; esto concuerda con los coeficientes de variación encontrados en los estudios de repetibilidad (Tabla VI) y en las pruebas de análisis de varianza realizadas (Tabla XXXV).

La concentración mínima detectable encontrada fué de 0.32 mcg/ml como se puede observar a partir de la prueba de t, Tabla XXXVI, realizada entre la absorbancia promedio de tres determinaciones del blanco y cada una de las concentraciones probadas.

5.2.2 Perfil de disolución de nueve productos de Nitrofurantoina.

En la Figura No. 3 se observa que los productos G, D, H y B no pasan la especificación de disolución de la USP XIX, sin embargo, si la comparación de las propiedades de disolución se realizan con la especificación de la USP XX (56). "No se debe disolver menos del 25% de la cantidad indicada en los comprimidos de $C_8H_6N_4O_5$ en 60 minutos", ahora solo los productos H, D y G no aprueban esta espe-

TABLA XXXVI. MINIMA CONCENTRACION DETECTABLE DE NITROFU
RANTOINA EN SOLUCION REGULADORA DE FOSFATOS
POR EL METODO ESPECTROFOTOMETRICO. (PRUEBA
DE t DE DOS COLAS ENTRE LA MEDIA DE LAS AB-
SORBANCIAS DEL BLANCO (CONCENTRACION 0.0)
CONTRA LOS VALORES MEDIOS DE ABSORBANCIA DE
CADA CONCENTRACION PRUEBA).

Concentración	Absorbancia		Nivel de significancia
	\bar{X}	S	
0.0	0.0017	0.0021	N.S.
0.1	0.0017	0.0015	N.S.
0.32	0.0277	0.0011	p<0.005
0.48	0.0380	0.0017	p<0.005
1.00	0.0697	0.0032	p<0.005

cificación. A partir de los datos mostrados en la Tabla XII y en la Figura No. 21, se calculó la constante de dilución a partir de la pendiente de la gráfica del logaritmo de la cantidad remanente por disolverse contra tiempo, en este método se supone la aplicación de condiciones "sink", esto es, que la concentración de la NTF en la solución es mucho menor que su concentración de saturación (51). En la Tabla XXXVII se presentan las constantes de disolución para cada producto, el coeficiente de determinación y el intercepto. A partir de la Figura No. 21 se observa claramente que existe gran variación en el comportamiento de disolución, la variación de las constantes de disolución calculadas van desde 0.227 a 0.001 min^{-1} (Tabla XXXVII).

Wagner (51), ha sugerido que una de las formas más adecuadas para determinar el tiempo en que se disuelve una determinada cantidad de fármaco a partir de una forma farmacéutica, es graficar el logaritmo del tiempo en las las ordenadas contra la cantidad disuelta en la escala normal de probabilidad en las absisas. Los datos de calidad disuelta de la Tabla XII se graficaron en esta forma y se obtuvo en la mayoría de los productos una línea recta como se observa en la Figura No. 22. A partir de esta figura se obtuvo el t_{10} , t_{25} , t_{50} y t_{75} para cada producto como se presenta en las columnas 2, 3,

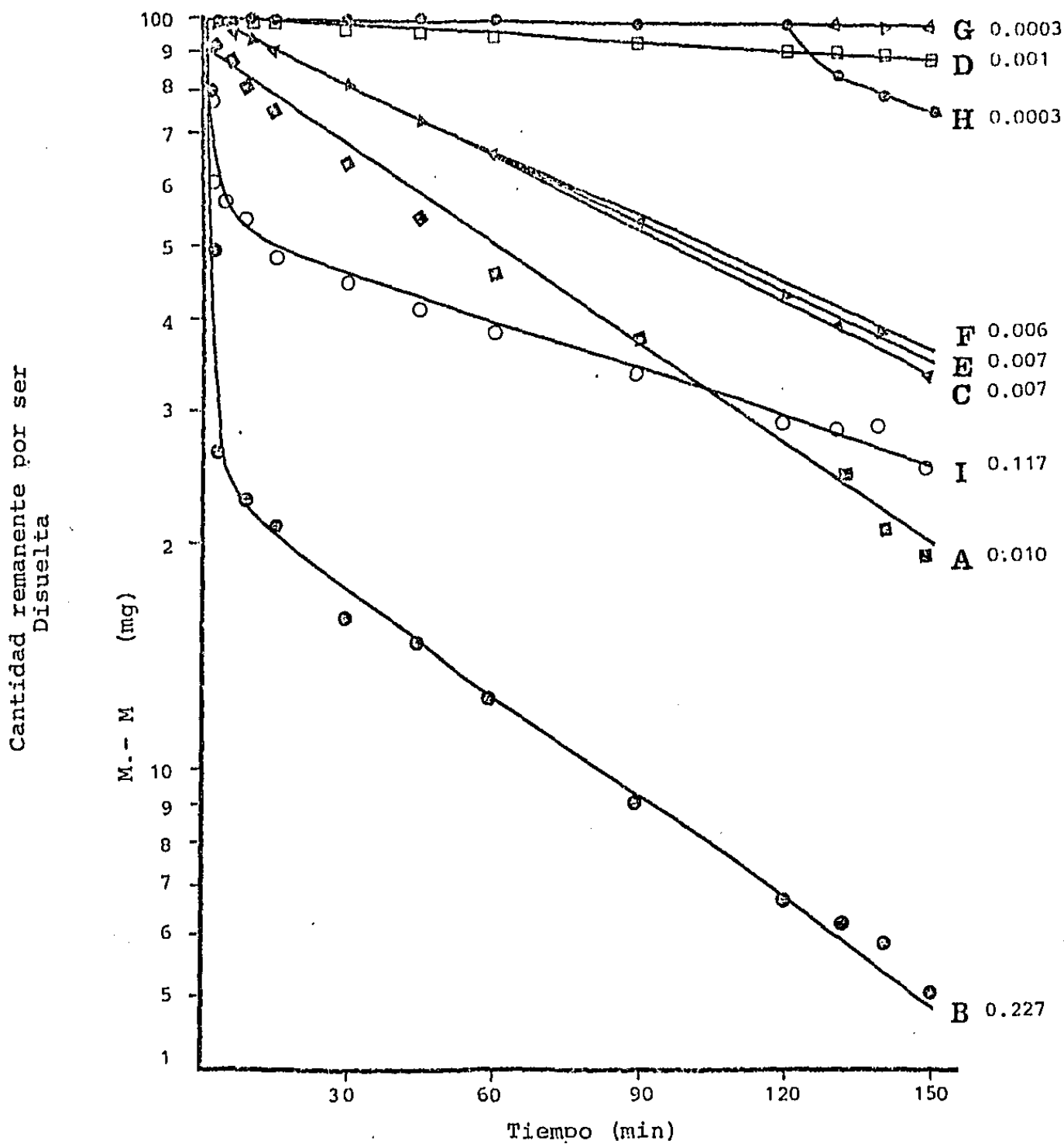


Figura No. 21 - Cantidad remanente para disolverse de los nueve productos de NTF.

TABLA XXXVII. CONSTANTES DE DISOLUCION DE LOS 9 PRODUCTOS
DE NITROFURANTOINA.

Producto	Método de cantidad remanente para ser disuelta		
	Cte. de disolución	Intercepto	Coefficiente de determinación
A	0.010 min ⁻¹	88.52	0.989
B	0.227 min ^{-1*}	86.97	1.000
C	0.007 min ⁻¹	102.85	0.998
D	0.001 min ⁻¹	97.41	0.968
E	0.007 min ⁻¹	103.35	0.976
F	0.006 min ⁻¹	96.87	0.956
G	0.0003 min ⁻¹	99.73	0.967
H	0.0003 min ^{-1**}	100.54	0.743
I	0.117 min ^{-1*}	103.00	1.000

* Para calcular la Cte. de disolución se tomaron los 2 primeros puntos de la Figura 13.

** Para calcular la Cte. de disolución se tomaron los 9 primeros puntos de la Figura 13.

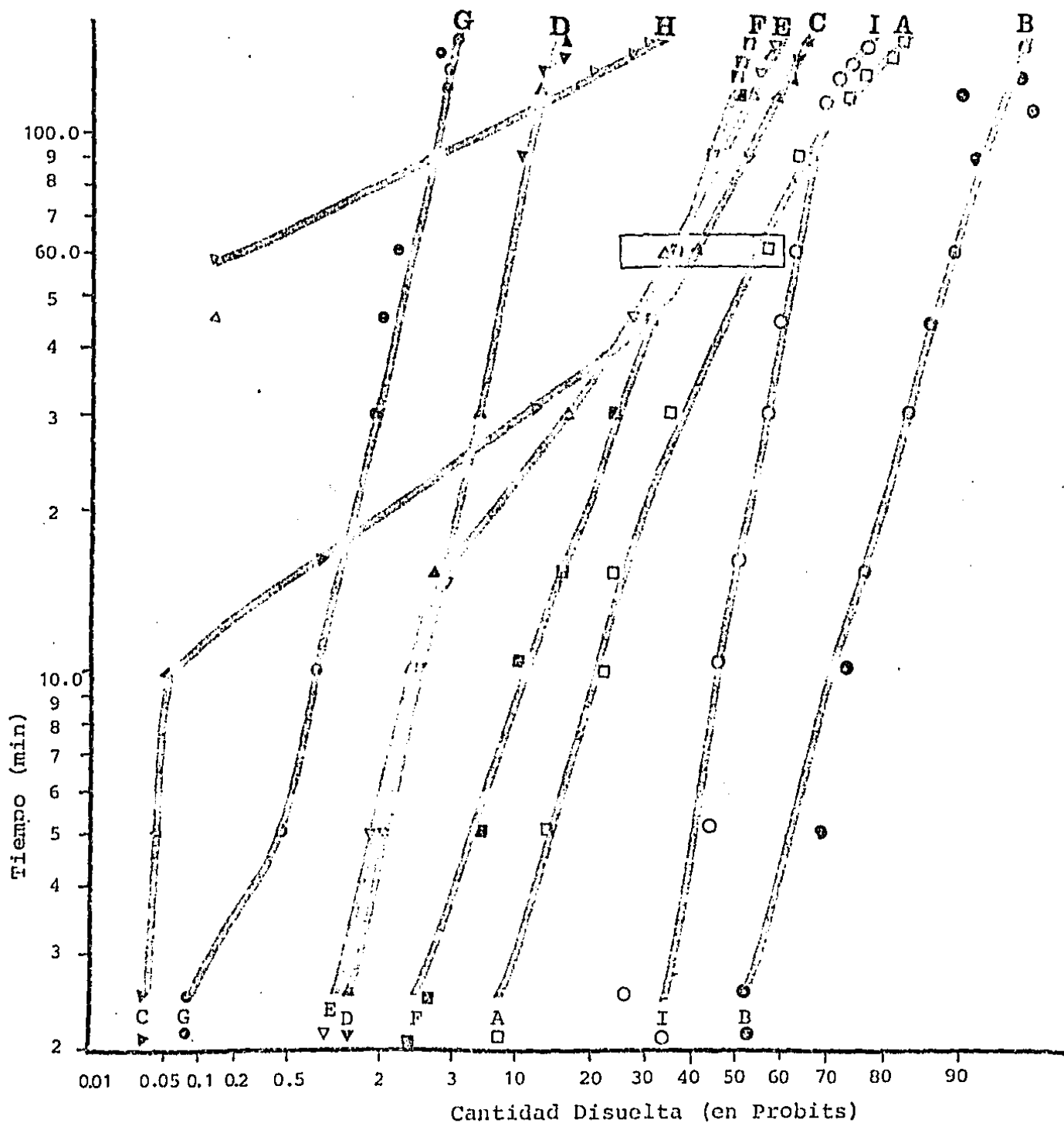


Figura No. 22 - Representación log-normal de los datos de disolución de los productos comerciales de NTF.

4 y 5 de la Tabla XXXVIII, en la Figura No. 22 se observa una desviación en el comportamiento de la cinética de disolución para los productos C y E.

Por análisis de varianza de una sola vía para la cantidad disuelta a los 60 min. y para la cantidad de NTF disuelta a los 150 min, se determinó una variación altamente significativa entre los diferentes productos ($p < 0.001$) Tablas XXXIX y XL. Se realizó la comparación estadística por prueba de t de dos colas, a un nivel $\alpha = 0.05$, para establecer el orden en la cantidad disuelta a los 60 y 150 min de los diferentes productos de la Tabla XLI. A los 60 no hay diferencia estadísticamente significativa en tres producto C, E, F, en cambio a los 150 min no existe diferencia significativa en la cantidad disuelta entre los productos C, E, F y entre I e A (Ver Tabla XLI). A los 60 min. ninguno de los productos nacionales presenta una cantidad disuelta estadísticamente comparable a la del producto innovador, a los 150 min sólo el producto I tiene una cantidad disuelta estadísticamente comparable al producto innovador (Tabla XLI).

No se encontró correlación estadísticamente significativa entre las pruebas de disolución, desintegración y dureza para los productos estudiados, aunque el producto G presenta el comportamiento más bajo en la prue

TABLA XXXVIII. TIEMPOS NECESARIOS PARA DISOLVERSE EN 10, 25, 50 y 75 POR CIENTO DE NITROFURANTOINA (NUEVE PRODUCTOS).

Producto	Gráfica de logaritmo normal			
	t_{10}	t_{25}	t_{50}	t_{75}
A	3.3	16	52	130
B	---	---	2.5	12
C	28	---	90	---
D	80	---	---	---
E	22	42	100	---
F	8.5	30	120	---
G	---	---	---	---
H	110	140	---	---
I	---	2.7	16	150

--- : no se tienen estos tiempos debido a que el producto se disolvía muy rápidamente, o demasiado lentamente. Ver Figura 21.

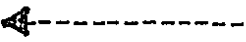
TABLA XXXIX. ANALISIS DE VARIANZA DE UNA VIA PARA LA CANTIDAD DISUELTA A LOS 60 MIN.

Variable	Suma de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Razón F
Productos	40766.22	8	5095.77	68.02
Dentro de Prods.	3070.89	45	70.9086	F(8,45)=2.18
Total	44137.89	53		

TABLA XL. ANALISIS DE VARIANZA DE UNA VIA PARA LA CANTIDAD DISUELTA A LOS 150 MIN.

Variable	Suma de cuadrados	gl	Cuadrado medio	Razón F
Productos	47517.80	8	5939	40.65
Dentro de Prods.	6571.9	45	146.04	$F(8, 40)=2.18$
Total	54089.49	53	1020.56	

TABLA XLI. ORDEN DE LOS PRODUCTOS EN TERMINOS DEL PORCEN
TAJE DISUELTO A LOS 150 y 60 MIN. POR PRUEBA
DE t BILATERAL.

Tiempo	O r d e n
150	B <u>I A</u> <u>C E F</u> D G H
60	B I A <u>E C F</u> D G H
	 cantidad disuelta
	MAYOR MENOR

ba de disolución además de no cumplir con las especificaciones de la prueba de desintegración y contenido.

5.3 Estudios in vivo.

5.3.1 Determinación de Nitrofurantoína en orina.

La determinación de Nitrofurantoína en orina se realizó por medio de una pequeña modificación del método original reportado por Conklin (46). Este método ha demostrado ser específico para la Nitrofurantoína (47). La modificación realizada consistió en disminuir el volumen del disolvente extractor de 5 a 3 ml y cambiar el agente acidificante de ácido clorhídrico 1 N a una solución saturada de sulfato de amonio.

Se estudiaron algunos factores que pueden afectar la determinación de Nitrofurantoína por el método nitrometano-hiamina: El incremento en la concentración de KOH en la formación del complejo nitrofurantoína-hiamina incrementa la absorbancia e inestabilidad de dicho complejo debido probablemente a la descomposición de hidróxido de hiamina (53). Este efecto se puede observar en la Tabla XIV.

La Nitrofurantoína es un ácido débil con pK_a 7.2 por lo cual se puede extraer de fases acuosas ácidas fácilmente con nitrometano. Se ha reportado el uso de diversos agentes acidificantes de la fase acuosa para facilitar dicha extracción ácido clorhídrico 0.2 M (46), cris-

tales de sulfato de amonio (48) y solución saturada de sulfato de amonio (47). Se comparó la precisión del método con cada uno de los tres diferentes acidificantes, por prueba de F comparando sus varianzas y de esa manera seleccionar el procedimiento más reproducible. Para esto se utilizó la razón de varianzas ($F = \frac{S_1}{S_2}$) si la F_{obs} es más pequeña que el valor en Tablas $\alpha = 0.10$, se concluye con una probabilidad del 95%, que los dos procedimientos no difieren significativamente en precisión. La Tabla XLIII resume la comparación de razón de varianza en donde se indica que no hay diferencia estadísticamente significativa en la precisión de las determinaciones usando cualquiera de estos acidificantes. Al realizar el método nitrometano-hiamina puede suceder que la cantidad de hiamina presente sea insuficiente para la determinación de la nitrofurantoína (ver Tabla XVI, curva patrón 1), de esta manera en la gráfica de la relación molar de NTF/hiamina (Figura No. 4) se observa que la relación molar NTF/hiamina para la determinación cuantitativa debe ser menor de 1.

Se observó un incremento en la concentración mínima detectable por el cambio de volumen del disolvente extractor de 5 ml a 3 ml (a partir de los datos de la Tabla XVIII se hizo una prueba de t bilateral, a un nivel $\alpha = 0.05$, entre la absorbancia del blanco y la absorbancia

TABLA XLII. EVALUACION DEL AGENTE ACIDIFICANTE PARA LA EXTRACCION DE NITROFURANTOINA, RAZON DE F PARA LOS TRES PROCEDIMIENTOS (A PARTIR DE LOS DATOS DE LA TABLA XV).

Concentración mcg/ml	Métodos Comparados	F	Nivel de significancia
100	B/A	115.56	N.S.
	B/C	88.04	N.S.
	C/B	1.31	N.S.
0	B/A	4.0	N.S.
	A/C	1	N.S.
	B/C	4.0	N.S.
50	A/C	8.0	N.S.
25	A/C	6.0	N.S.
10	A/C	1.0	N.S.
5	A/C	18.0	N.S.
1	A/C	1.0	N.S.

A : HCl 0.2 M

B : cristales de sulfato de amonio

N.S.: no significativo

C : solución saturada sulfato de amonio

de cada una de las concentraciones). Con 3 ml existe diferencia estadísticamente significativa ($0.05 < p < 0.01$) entre la absorbancia del blanco y la absorbancia de 1 mcg/ml, en cambio con 5 ml no existe diferencia estadísticamente significativa entre el blanco y la concentración de 1 mcg/ml. La sensibilidad al cambiar el volumen de disolvente extractor (Tabla XIX), en el método (N-H) se evalúa a partir de la pendiente de absorbancia contra concentración. Se encontró que no hay diferencia estadísticamente significativa, por prueba de t unilaterial entre dos pendiente (57), sin embargo se observa, un incremento ligero en la sensibilidad de 0.01342 a 0.01754 por el cambio de 5 ml por 3 ml.

El coeficiente de variación en la repetibilidad del método para concentraciones de 1.0 y 100 mcg/ml fué de 27.9% a 2.5% respectivamente (Tabla XX), con un coeficiente de determinación de 0.999 ($p < 0.01$). La reproducibilidad del método se evalúa con los datos de la Tabla XXI, se encontró un coeficiente de variación de 1.5% a 26.5%, en el rango de concentraciones de 100 a 1 mcg/ml respectivamente. Se observó que existen los mismos coeficientes de variación tanto en las determinaciones realizadas el mismo día como en días diferentes, lo que significa que la reproducibilidad y la repetibilidad son de la misma magnitud. La linealidad mostró un coeficiente

de determinación de 0.998 ($p < 0.01$).

Al determinar el intervalo de concentraciones de máxima precisión del método espectrofotométrico por medio de la gráfica de Ringbom (49), partiendo de la Figura No. 5, se encontró que el rango de máxima precisión se encuentra entre 7 y 75 mcg/ml.

Se estudió el porcentaje de recuperación de la NTF en la orina, en un rango de concentraciones de 1 a 52.6 mcg/ml observándose que la recuperación se incrementa entre 72.1% hasta el 97.4% (Tabla XXV), esto concuerda con el 71% encontrado por Mattock y col. (64), en un intervalo de concentraciones entre 0 a 2 mcg/ml.

5.3.2 Determinación de Nitrofurantoina en sangre.

Se aplicó el método colorimétrico de nitrometano-hiamina modificado por Mattock, McGilveray y Charette (48), en la curva estándar de concentraciones de 10.0, 5.0, 1.0, 0.5, 0.2 y 0.0 mcg/ml; se encontró que el método era lineal ($r = 0.984$, $p < 0.01$).

La concentración de NTF más alta determinada en sangre por cromatografía de líquidos a alta presión en humanos, después de una administración oral de 100 mg de NTF, se encuentra alrededor de 3 mcg/ml (54).

En el intervalo de concentraciones de interés biofarmacéutico (0.2 a 5 mcg/ml) se encontró un elevado coeficiente de variación entre 4.1 y 41.6% (Tabla XXVI). Al-

bert (55), al realizar un estudio de biodisponibilidad de diferentes productos de NTF con datos sanguíneos por el método de nitrometano-hiamina, observó falta de sensibilidad y gran variación en las determinaciones de NTF en sangre. Por tanto, el método nitrometano-hiamina carece de sensibilidad y reproducibilidad para ser usado adecuadamente en estudios de biodisponibilidad de NTF en muestras sanguíneas.

5.3.3 Estudios preliminares de biodisponibilidad y bioequivalencia de Nitrofurantoína.

5.3.3.1 Administración intravenosa.

Se determinó la velocidad urinaria de excreción y la cantidad excretada a diferentes tiempos después de la administración i.v. de 50 mg de NTF a un voluntario sano de 70 kg; a los datos de la cantidad excretada (Tabla XXVII) se les aplicó el método de sigma menos y de velocidad de excreción urinaria (52), asumiendo un método abierto de un compartimento para la NTF, de acuerdo a lo informado por algunos autores (14). La vida media de eliminación calculada por el método de velocidad de excreción fué de 13.5 min con un intervalo de confianza del 95% de 3.5 min. lo cual concuerda con lo reportado (8, 25). No se detectó NTF en orina después de 2.5 h de la administración i.v., además se encontró un porcentaje recuperado en orina del 64% de la dosis administrada, lo

cual concuerda con lo reportado por Mazza y Reckendorf (38, 25). Rosenberg (14), después de la administración oral a humanos en varias dosis desde 25 hasta 100 mg en contró que la farmacocinética de la NTF es lineal a partir de datos urinarios. Los dos primeros puntos de la cinética de eliminación de la NTF no son lineales (Figura No. 6), lo cual puede indicar la saturación de un mecanismo de eliminación de capacidad limitada después de la administración de NTF i.v. en dosis de 50 mg.

5.3.3.2 Administración oral de una solución.

Asumiendo modelo abierto de un compartimiento para la farmacocinética de la NTF a los resultados mostrados en la Tabla XXVII, se les aplicó el método de sigma menos y de velocidad de excreción urinaria (52), para estimar la $t_{1/2}$ a partir de la mejor recta por ajuste de mínimos cuadrados de la fase logarítmica lineal. De los datos de velocidad de excreción se encontró una $t_{1/2}$ de 38.5 min, de la cantidad remanente para ser excretada se obtuvo una $t_{1/2}$ de 33.5 min. La $t_{1/2}$ del proceso exponencial residual, de los datos de velocidad de excreción fué de 17.3 min y de los datos de la aplicación del método de sigma menos se obtuvo una $t_{1/2}$ de 18 min (Figuras No. 9 y 10). En la Tabla XLIII se presentan las vidas medias y coeficientes de determinación calculados a

TABLA XLIII. PARAMETROS CINETIVOS OBTENIDOS DE LA FASE LOGARITMICO LINEAL Y POR EL METODO DE LOS RESIDUOS A PARTIR DE DATOS URINARIOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE UNA SOLUCION ACUOSA DE NITROFURANTOINA.

Voluntario	Método velocidad de excreción				por ciento remanente para ser excretado			
	Fase lineal final		Residuos		Fase lineal final		Residuos	
	$t_{1/2}(\text{min})r^2$	r^2	$t_{1/2}(\text{min})r^2$	r^2	$t_{1/2}(\text{min})r^2$	r^2	$t_{1/2}(\text{min})r^2$	r^2
1	33.0	0.99	23.4	0.99	31.4	0.99	15.5	0.97
2	26.7	0.99	18.0	1.00	25.0	0.99	-	-
3	39.3	0.97	22.5	0.99	35.5	0.99	17.0	0.98
\bar{X}	33.0	0.98	21.3	0.99	30.9	0.99	16.2	0.98
S	6.3		2.9		4.8		1.1	
*	38.8	0.98	17.6	0.96	33.5	0.99	18.0	1.00

* Valores obtenidos del promedio de los datos de excreción urinaria Tabla XXVIII y Figuras 9, 10.

partir de datos urinarios individuales considerando ya sea la fase logarítmico lineal de las gráficas de velocidad de excreción (Figura No. 23) o de la gráfica de sigma menos (Figura No. 24). A cada una de estas gráficas se les aplicó el método de los residuos y los parámetros promedio encontrados se presentan en la Tabla XLIII así como su S , como puede observarse en la Figura No. 24 en el voluntario No. 2 la fase logarítmico lineal se presenta a partir del segundo dato experimental por lo que en éste caso no fué posible aplicar el método de los residuos.

En la Tabla XLIV se presenta la aplicación del método de los residuos a partir del promedio de los datos de la Tabla XXVII, empleando los métodos ya mencionados (52).

No se detectó NTF en orina después de las 7 h de la administración oral de NTF en solución acuosa, en la Figura No. 8 se observa que la meseta de la cantidad acumulativa excretada se alcanza desde las 5 hs., con una cantidad acumulativa excretada promedio a las 7 hs. de $42.63 \text{ mg} \pm 3.79 \text{ mg}$, se puede notar una s pequeña de 3.79 mg lo cual incrementa el poder de las comparación estadísticas realizadas a partir de la administración oral de la solución de NTF. El análisis de las gráficas del logaritmo del porcentaje de NTF remanente por ser excretado de NTF contra tiempo, después de la administración oral e i.v. mostradas en las Figuras No. 10 y 6 indican que las

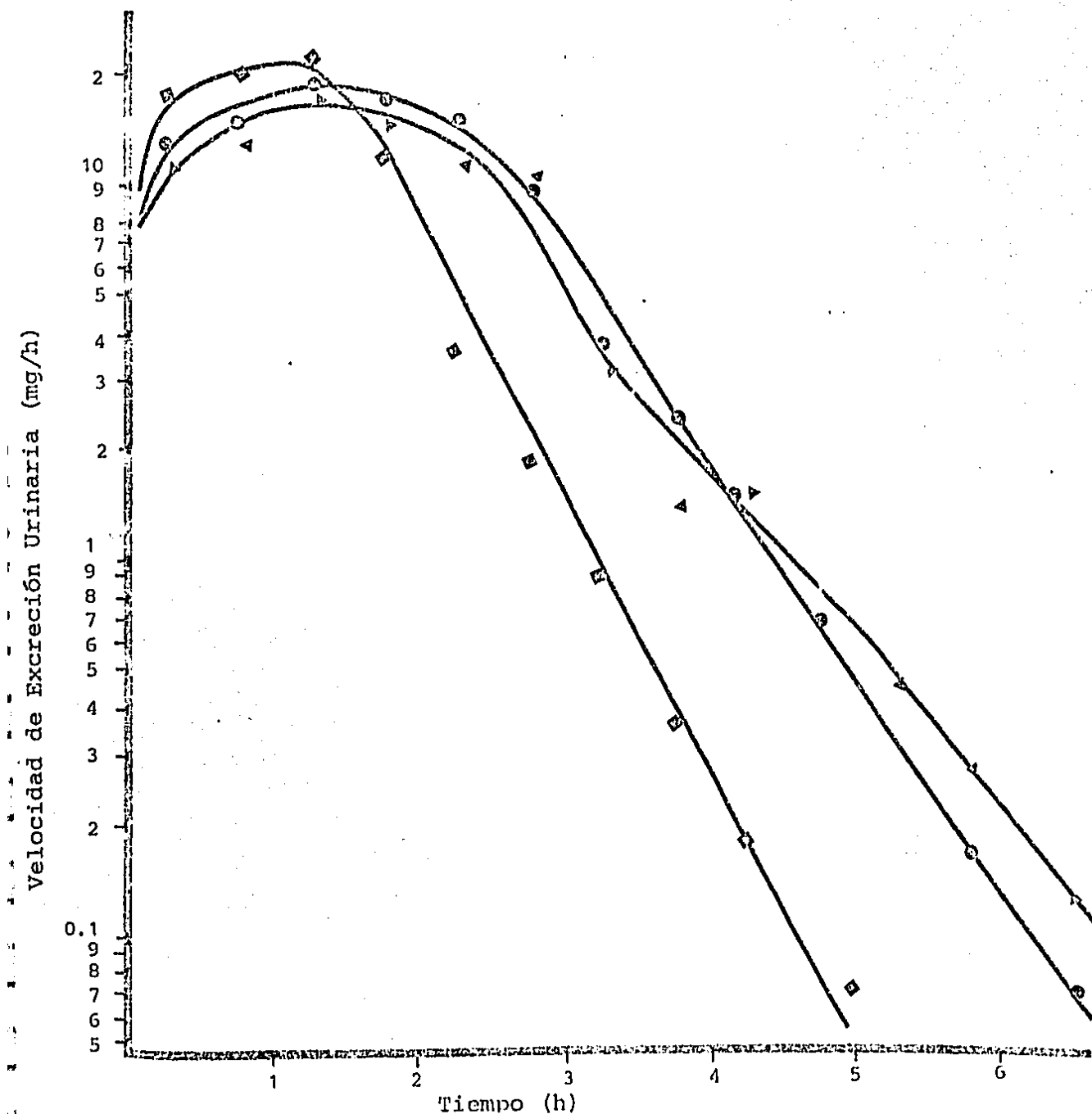


Figura No. 23 - Gráfica de la velocidad de excreción urinaria contra tiempo (t_{mid}) de cada voluntario después de la administración oral de una solución acuosa de 100 mg/100 ml de Nitrofurantoína.

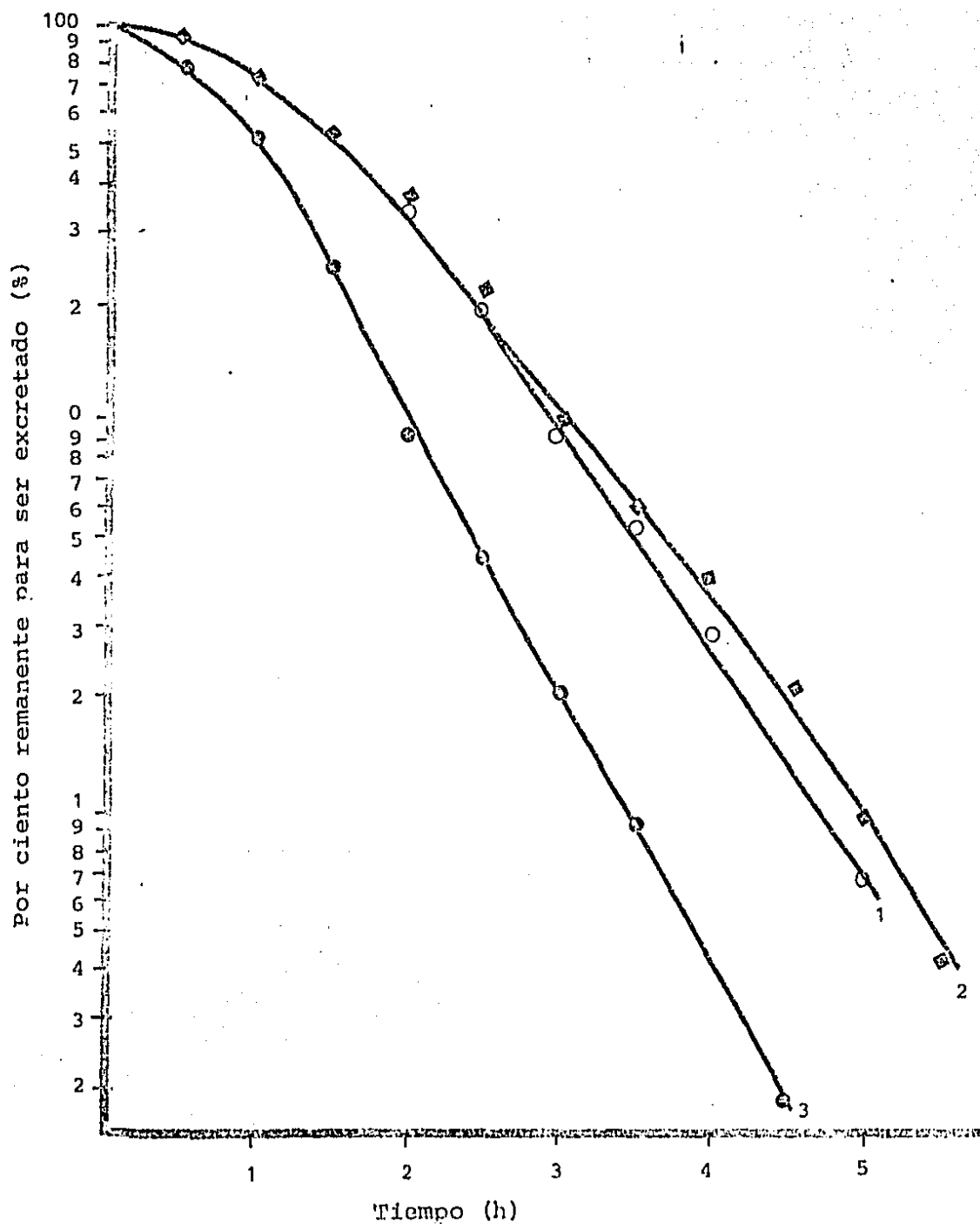


Figura No. 24 - Gráfica del porcentaje remanente por ser excretado contra tiempo de cada voluntario después de la administración oral de una solución acuosa de 100 mg/ml de Nitrofurantoína.

TABLA XLIV. APLICACION DEL METODO DE LOS RESIDUOS A LOS DATOS URINARIOS INDIVIDUALES DESPUES DE LA ADMINISTRACION ORAL DE LA SOLUCION ACUOSA DE NITROFURANTOINA.

Voluntario	Velocidad de excreción				Sigma menos			
	t (h)	extra-polado (mg/h)	residual (mg/h)	Parámetro	t (h)	extra-polado (mg)	residual (mg)	parámetro
1)	0.25	188.29	175.39	$y_{\overline{1}} = 298.24$	0.5	276.43	190.29	$y_{\overline{1}} = 898.13$
	0.75	100.23	86.33	$m_{\overline{1}} = -1.773$	1.0	141.97	70.84	$m_{\overline{1}} = -2.695$
	1.25	53.36	35.26	$\frac{2}{r_{\overline{1}}} = 0.992$	1.5	72.91	21.27	$\frac{2}{r_{\overline{1}}} = 0.97$
	1.75	28.40	12.30	$t_{1/2} = 23.3$	2.0	37.45	3.18	$t_{1/2} = 15.5$
2)	0.25	95.01	76.36	$y_{\overline{2}} = 135.95$	0.5			
	0.75	43.73	24.09	$m_{\overline{2}} = -2.307$	1.0			
	1.25			$\frac{2}{r_{\overline{2}}} = 1.00$	1.5			
	1.75			$t_{21/2} = 18.0$	1.0			
3)	0.25	94.64	83.79	$y_{\overline{3}} = 149.95$	0.5	259.41	172.14	$y_{\overline{3}} = 691.93$
	0.75	55.79	42.87	$m_{\overline{3}} = -1.85$	1.0	138.98	66.89	$m_{\overline{3}} = -2.45$
	1.25	32.89	16.05	$\frac{2}{r_{\overline{3}}} = 0.99$	1.5	74.46	22.15	$\frac{2}{r_{\overline{3}}} = 0.98$
	1.75	19.38	5.30	$t_{31/2} = 22.5$	2.0	39.89	4.14	$t_{31/2} = 16.9$

y : intercepto; m : pendiente; r^2 : coeficiente de determinación

$t_{1/2}$: vida media (min).

pendientes terminales son diferentes, esto es, la pendiente terminal de los datos orales ($k_{o.p.} = 1.24 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 0.558 \text{ h}$), no corresponde a la constante de velocidad de eliminación determinada a partir de la pendiente terminal de los datos i.v. ($k_{i.v.} = 2.2 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 0.31 \text{ h}$). Por otro lado mediante la aplicación del método de los residuos, a los datos orales se encontró la constante de la velocidad del proceso más rápido ($k_{o.p.r.} = 2.1 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 0.33 \text{ h}$), la cual es prácticamente igual a la constante de velocidad de eliminación calculada a partir de los datos intravenosos ($k_{i.v.}$) en los cuales no interviene la absorción. De esta manera, sin pretender que esta observación única tenga relevancia estadística y a reserva de comprobarla, los resultados indican que el peso limitante de la farmacocinética de la NTF después de su administración oral es la absorción gastrointestinal, por ende, en este caso la pendiente de la porción logarítmica lineal terminal es una medida de la constante de la velocidad de absorción y no de su eliminación, ilustrando así la influencia de la vía de administración en el perfil farmacocinético. Al analizar los datos de cantidad acumulativa de NTF excretada en la orina contra tiempo, como se observa en la Figura No. 7 se aprecia que el % de NTF excretado después de la administración i.v. (65%) es casi 1.4 veces el % excretado después de la administración p.o.

(46.5%) resultando en una biodisponibilidad del 71.5% utilizando la siguiente ecuación:

$$F = \frac{(Aex^{\infty})_{p.o.} \cdot Di.v.}{(Aex^{\infty})_{i.v.} \cdot Dp.o.} \times 100 \quad \text{Ec. (2)}$$

Esto indica que los factores de introducción (vía de administración) resultan de una disminución de la biodisponibilidad, efecto de primer paso, considerable (28%).

5.3.3.3 Administración del producto innovador.

No se aplicó el método de los residuos a las gráficas individuales de velocidad de excreción contra t_{mid} , debido a la gran variación presentada en la velocidad de excreción. No se detectó NTF en orina después de las 8 h de la administración oral del producto innovador en la Figura No. 11 se observa que la meseta de la cantidad acumulativa se alcanzó a las 8 h con una cantidad excretada promedio a las 24 h de 34.064 ± 8.48 mg.

En base a las vidas medias obtenidas de la administración i.v. y oral de una solución y oral del comprimido del producto innovador de NTF, se puede considerar a la pendiente final de la fase logarítmico lineal como la del proceso que describe la liberación del fármaco de dicho comprimido dentro del conducto gastrointestinal y que consecuentemente determina su aparición en cantidades adecuadas en orina y por lo tanto su efecto terapéutico.

Se observó una diferencia significativa (prueba de t de dos colas a un nivel $\alpha = 0.05$) entre las vidas medias del proceso final y residual de la administración oral de la solución y el comprimido, calculados de los datos tratados por el método de sigma menos, además se determinó una diferencia estadísticamente significativa (prueba de t de dos colas a un nivel $\alpha = 0.05$), en la cantidad acumulativa excretada después de la solución y del comprimido. El producto innovador mostró una biodisponibilidad relativa de 79.35% (34.06 mg excretados) considerando como 100% la cantidad excretada (42.62 mg) después de la administración de la solución. Con los parámetros de biodisponibilidad promedio y sus respectivas desviaciones estándar calculados a partir de datos de un estudio de excreción urinaria, como puede ser la cantidad acumulativa excretada (A_e), la constante de absorción (k_a), la velocidad máxima de excreción ($\Delta A_{ex}/\Delta t \text{ max}$) y el tiempo de velocidad máxima de excreción ($t \text{ max}$), se puede calcular el número necesario de voluntarios para detectar una diferencia estadísticamente significativa de un 20% en la biodisponibilidad de los productos en estudio, a un nivel de significancia del 5% (58).

Cochran y Cox (59), calculan este número a partir de la siguiente desigualdad (Ec. (5)).

$$\Delta > \sqrt{2\sigma^2/n}, \quad (t_{\alpha/2} = t_{\beta}) \quad \text{Ec. 3}$$

Donde

Δ = es la mínima diferencia en la biodisponibilidad que se desea detectar (0.20).

σ^2 = error varianza por observación

n = número de sujetos

$t_{\alpha/2}$ y t_{β} = son tomados de tablas de los valores de t su poniendo un número infinito de grados de libertad.

de esta manera $t_{\alpha/2}$ es 1.96 (para $\alpha = 0.05$) y t_{β} es 0.84 (para $1 - \beta = 0.80$), de donde, reorganizando la ecuación anterior.

$$n \geq 15.58 \sigma^2 / \Delta^2$$

Considerando a la cantidad acumulativa excretada a 24 h (valor promedio) y a su DE, como parámetros confiables, se hizo el cálculo siguiente:

$$n > \frac{15.68 (8.480/34,064)^2}{(0.20)^2} > 24.29$$

Esto significa que se necesitan 25 observaciones (voluntarios) para cada una de las formulaciones a estudiar, para tener un poder en la prueba de análisis de varianza de 0.8.

5.3.3.4 Estudio cruzado completo del producto innovador contra el producto Nacional ("D").

Se seleccionó un diseño cruzado para este estudio por dos razones: 1a.) reducir la varianza de sujeto a

sujeto (usando cada sujeto como su propio control) dentro de las mismas características de peso, estatura, edad y grado de obesidad, esto es para disminuir la variación debida a los sujetos, 2a.) reducir la variación debida al tiempo, realizando la prueba de biodisponibilidad con el mismo número de sujetos por producto simultáneamente.

Se escogió el producto nacional "D" porque era un producto químicamente equivalente al producto innovador (ver Tabla V) presentó una dureza significativamente más alta que el producto innovador (pero cumplía la especificación de la USP XIX); además el producto D mostró un perfil de disolución muy bajo (Figura No. 3) que no cumplía con las especificaciones de la USP XIX y XX, con estas características se consideró que el producto D tenía un potencial elevado para presentar una biodisponibilidad baja.

No se detectó NTF en orina después de las 8 h de la administración oral, excepto en aquellos volúmenes urinarios que fueron menores de 30 ml entre las 8 y 10 h. Se observó que la meseta de la cantidad acumulativa excretada se alcanzó a las 8 h tanto para el producto innovador como para el producto D. La cantidad acumulativa excretada promedio a las 10 h fué de $35,39 \pm 4.25$ mg pa

ra el producto innovador y de 16.16 ± 5.91 mg para el producto D (Figura No. 15). Se realizó análisis de varianza de la cantidad acumulativa excretada a las 10 h en un diseño de cuadrado latino de 2×2 (los cálculos se presentan en el Apéndice V y los resultados de estos cálculos se presentan en la Tabla XLV). Las razones de F entre cada fuente de variación y el residual para tratamiento fué de $702.51/22.92 = 30.65$, cuando $\nu_1 = 1$ y $\nu_2 = 2$, el valor de F tablas (60) arriba del cinco por ciento ($p = 0.025$), es 18.5 y el valor de F arriba de 2.5 por ciento ($p = 0.025$) es de 38.5 Así, el valor experimental se encuentra entre dos valores de tablas por lo que se puede escribir la siguiente desigualdad: $0.025 < p < 0.05$, estableciendo la probabilidad de que no hay diferencia en los tratamiento. Aplicando la prueba de t de dos colas a los valores de la cantidad acumulativa excretada en orina, se encontró un valor experimental de $t = 5.15$ el nivel de significancia con el cual se debe comparar si la diferencia es significativa de (0.025) (59). En tablas el valor de t_{99} , con 6 grados de libertad es de 3.143, por consiguiente la diferencia es altamente significativa ($p < 0.005$).

La concentración efectiva de la NTF contra el 90% de cepas de E. coli es de 32 mcg/ml y de 75 mcg/ml contra

TABLA XLV. ANALISIS DE VARIANZA DE LA CANTIDAD ACUMULADA EXCRETADA A LAS 10 H EN EL ESTUDIO DE DOS VIAS.

Fuente de variación	g.l.	SS.	MS	F _{obs}	Nivel de Significancia
Total	7	861.48	---	---	N.S.*
Sujetos	3	88.29	29.43	1.28	N.S.
Grupos	1	47.38	47.38	2.07	N.S.
Suj./Grup.	2	40.90	20.45	0.89	N.S.
Semanas	1	24.53	24.53	1.07	N.S.
Tratamientos	1	702.51	702.51	30.65	0.025 < p < 0.05
Residual	2	45.83	22.92	---	---

* N.S. no significativo

gl grados de libertad

SS Suma de cuadrados

SM cuadrado medio

F_{obs} la razón de varianzas con respecto a la residual

cepas resistentes de E. coli (41). En la Figura No. 25 se muestra la gráfica de las concentraciones promedio en orina ($\pm S$) para cada producto. El producto innovador mantiene la concentración de 30 mcg/ml en orina por un tiempo de 4.25 ± 1.93 h en cambio el producto "D" sólo mantiene por 2.45 ± 2.71 h la concentración de 30 mcg/ml y la concentración de 75 mcg/ml por 0.37 ± 0.75 h. Se hizo el análisis de varianza del tiempo en que cada formulación mantiene 30 mcg/ml y 75 mcg/ml. Las Tablas XLVI XLVII muestran los resultados de las razones de F entre cada fuente de variación y el residual. Al comparar los valores de F en Tablas con los datos obtenidos no se observa diferencia significativa en ninguna fuente de variación. Al aplicar la prueba de t para el tiempo medio que se observa la concentración de 30 mcg/ml, se encontró un valor de t experimental de 1.05, no encontrando diferencia significativa al compararlo con el valor de Tablas (60) t_{99} , con 6 grados de libertad, la misma situación se presentó al analizar los datos del tiempo en que cada formulación mantiene 75 mcg/ml el valor de la prueba de t experimental fué de 2.18, con el cual no se observa diferencia significativa entre los dos productos.

Se graficaron en papel similogarítmico las velocidades

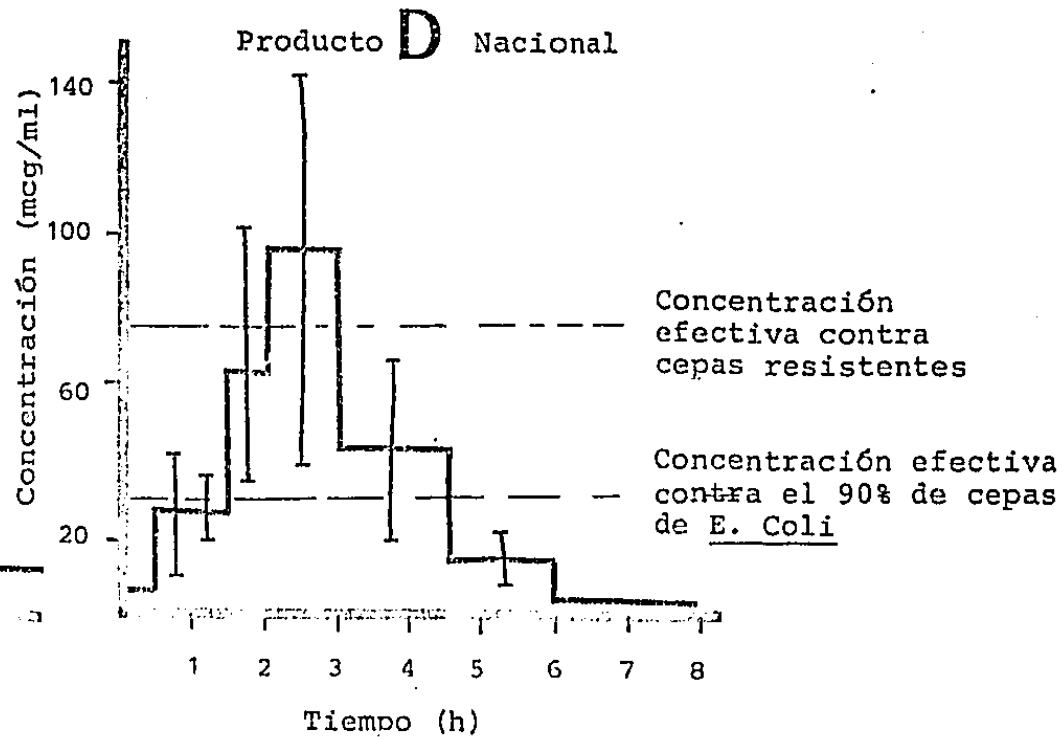
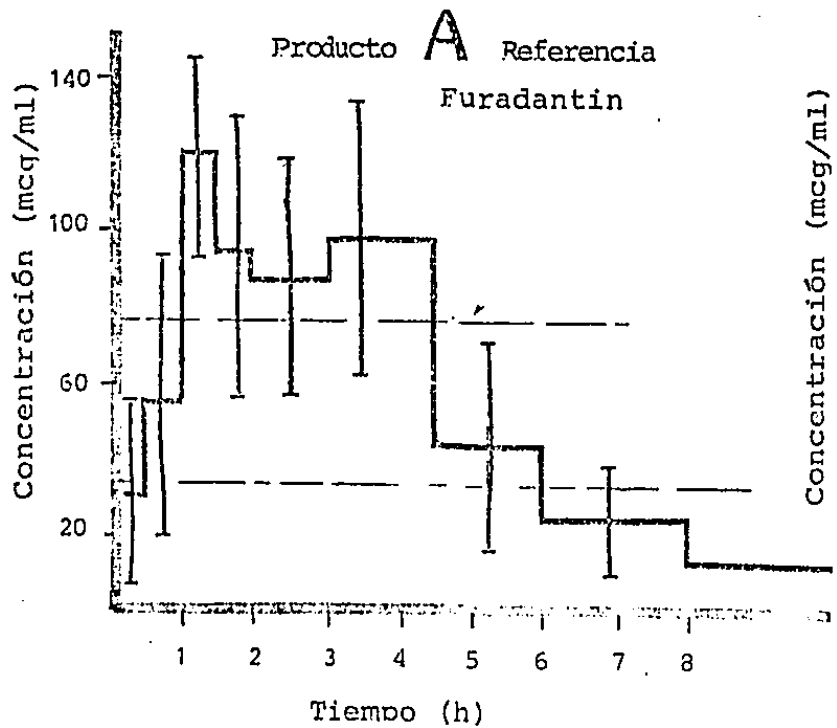


Figura No. 25 - Histograma de la concentración media urinaria (\pm S) de los productos Innovador y "D".

TABLA XLVI. ANALISIS DE VARIANZA DEL ESTUDIO CRUZADO DE DOS VIAS PARA LA DURACION DE LA CONCENTRACION DE 30 MCG/ML EN ORINA.

Fuente de variación	g.l.	SS	MS	F	Nivel de Signaficancia
Total	7	41.86			
Sujetos	3	25.24	8.41	3.85	N.S.
Grupos	1	14.58	14.58	6.68	N.S.
Sujetos/Grupo	2	10.66	5.33	2.44	N.S.
Semanas	1	5.78	5,78	2.65	N.S.
Tratamientos	1	6.48	6.48	2.97	N.S.
Residual	2	4.36	2.18		

TABLA XLVII. ANALISIS DE VARIANZA DEL ESTUDIOS CRUZADO DE DOS VIAS PARA LA DURACION DE LA CONCENTRACION DE 75 MCG/ML EN ORINA.

Fuente de variación	g.l.	SS	MS	F	Nivel de significancia
Total	7	26.50	-	-	-
Sujetos	3	6.25	2.08	0.30	N.S.
Grupos	1	3.125	3.12	0.45	N.S.
Sujetos/Grupos	2	3.125	1.56	0.22	N.S.
Semanas	1	0.5	0.5	0.07	N.S.
Tratamientos	1	5.13	6.13	0.90	N.S.
Residual	2	13.62	6.81		

des de excreción promedio contra t_{mid} para los dos productos. Como se muestra en la Figura 14, el producto innovador presente una velocidad máxima de excreción de 11.79 ± 5.27 mg/h y el producto D de 5.38 ± 3.45 . Se hizo la prueba de t , a todos los t_{mid} , entre las velocidades de excreción del producto innovador y el producto D. Solo se encontró diferencia significativa entre los dos productos a las 2.5 h ($p < 0.05$), el valor de t experimental fué de 2.65 y el valor de t_{95} de tablas, con 6 grados de libertad, es de 2.447. Se estimaron las vidas medias de la fase logarítmico lineal para los productos a partir de la Figura No. 14, con sus correspondientes coeficientes de correlación lineal, a cada línea se le aplicó el método de los residuos obteniéndose las vidas medias correspondientes. Estos parámetros se presentan en la Tabla XLVIII. No se aplicó el método de los residuos a las gráficas individuales de velocidad de excreción contra t_{mid} debido a la gran variación mostrada.

A partir de la ecuación sugerida por Dixon (60), se calculó el número de voluntarios necesario para detectar una diferencia estadísticamente significativa del 20% en la biodisponibilidad de productos de NTF, a un nivel del 0.05. El cálculo se basó en las cantidades excretadas en orina del producto D y del producto innovador, de acuerdo a la ecuación 4.

TABLA XLVIII. PARAMETROS OBTENIDOS DE LA FASE LOGARITMO LINEAL (VELOCIDAD DE EXCRECION) Y POR EL METODO DE LOS RESIDUOS A PARTIR DEL PROMEDIO DE LOS DATOS PARA CADA PRODUCTO (2 x 2).

Producto	Fase log lineal final $t_{1/2}$	r^2	Residual $t_{1/2}$	r^2
Furadantin ^R	114.4 min	0.97	29.3 min	0.97
Producto "D"	59.5 min	0.99	29.5 min	0.97

$$\phi^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (u_i - \bar{u})^2 / k}{n} \quad \text{Ec. 4}$$

En la cual ϕ^2 es una función que se utiliza para medir una alternativa. La posibilidad de rechazar la hipótesis $u_1 = u_2 = \dots = u_k$, la cual puede usarse también para determinar la potencia del contraste.

n = número de observaciones de cada formulación (a determinar).

u_i = las medias experimentales observadas de cada población ($u_1 = 35.39$, $u_2 = 16.16$)

\bar{u} = la media de las medias experimentales (25.72).

ϕ^2 = el cuadrado medio residual del análisis de varianza para el diseño cuadrado, (ver Tabla XLV) (22.92).

k = número de productos probados.

Aplicando la ec. 4 el número necesario de voluntarios por producto es de 8 para tener una posibilidad de descubrir la diferencia del 80%.

5.3.3.5 Bioequivalencia de seis productos.

Se estimó el promedio y su S de las $t_{1/2}$ de cada producto a partir de los datos individuales, por el método de sigma menos se estimaron las $t_{1/2}$ de la fase logarítmico lineal y $t_{1/2}$ por el método de los residuos, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las $t_{1/2}$ de los productos por análisis de varianza a un

nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Se observó que la meseta de la cantidad acumulativa excretada de NTF se alcanzó a las 8 h (Figura No. 18), para todos los productos. Se realizó el análisis de varianza de la cantidad acumulativa excretada a las 10 h para un cuadrado latino de 6 x 6. En la Tabla XLIX se presentan las razones de F entre cada fuente de variación y el residual, se observa que el valor de F para los tratamientos fué de 1.85. Cuando $V_1 = 5$ y $V_2 = 20$, el valor de F en tablas arriba del veinticinco por ciento ($p = 0.25$) es de 1.47 y el de F arriba del diez por ciento ($p = 0.10$), es de 2.25.

De esta manera, el valor experimental se encuentra entre estos valores de tablas y por tanto se puede escribir la desigualdad $0.10 < p < 0.25$, estableciéndose así que no hay diferencia significativa entre tratamientos debido a la gran varianza residual y al pequeño número de voluntarios usados en el estudio preliminar, para disminuir la varianza residual e incrementar una varianza de grupos es necesario aumentar el número de voluntarios por producto. Se calculó la potencia del análisis de varianza realizado (60) mediante la ec. 4 ya mencionada, el poder del análisis de varianza ($1 - \beta$) es aproximadamente de 0.55, lo cual significa que se tiene una probabilidad del 55% de descubrir la diferencia en los tratamientos con este número de voluntarios.

TABLA XLIX. ANALISIS DE VARIANZA PARA LA CANTIDAD ACUMULATIVA EXCRETADA A LAS 10 H PARA UN CUADRADO LATINO DE 6 x 6 PARA PRODUCTOS DE NTF.

Fuente de variación	g.l.	SS	MS	F	Nivel de Significancia
Semanas	5	250.997	50.199	0.334	N.S.
Sujetos	5	119.56	23.912	0.159	N.S.
Tratamientos	5	1106.531	221.306	1.85	0.10 < p < 0.25
Residual	20	2396.46	119.623	---	
Total	35	3873.54			

Se realizó el cálculo del número de voluntarios necesario para detectar una diferencia en biodisponibilidad estadísticamente significativa entre los productos en estudio del 20% a un nivel de significancia del 0.05 (como en la sección anterior). Para este cálculo se tomaron en cuenta las cantidades medias excretadas promedio y sus DE a partir de los productos estudiados. Los resultados indican que el número necesario de observaciones (voluntarios); por medicamento a estudiar debe ser de 8, esto concuerda con el cálculo realizado en el estudio cruzado de 2×2 y con lo sugerido por la Asociación Farmacéutica Americana para realizar estudios de Bioequivalencia de NTF (2).

En la Figura No. 20 se presenta un histograma de las concentraciones urinarias promedio para cada producto y en la Figura No. 19 las cantidades acumulativas excretadas de cada producto. Se puede observar que las concentraciones en orina por sí solas no son un buen indicador de la calidad del medicamento, ya que no hay concordancia entre las gráficas de concentración y cantidad excretada en orina, esto se debe a la gran variación que se tiene en el volumen de orina excretado a los diferentes tiempos.

5.4 Correlación in vitro - in vivo.

Existen varias publicaciones en las que se ha intentado correlacionar los resultados de estudios de excreción

urinaria realizados en humanos con diferentes productos de NTF (18, 39, 41, 62), con pruebas in vitro. Solamente en dos de estos estudios se ha podido establecer una correlación lineal in vitro - in vivo (39, 62).

En la Tabla L se presentan las correlaciones encontradas para las variables in vitro - in vivo seleccionadas, se observó que los parámetros de velocidad de absorción ($t_{1/2}$ de la fase final, cantidad excretada a 1.5 h y 1.0 h) se correlacionan con los parámetros de velocidad de disolución, tanto por correlación lineal cuantitativa por mínimos cuadrados como por correlación por rangos de Sperman (63). En dicha tabla se puede observar que existen: (a) dos correlaciones cuantitativas estadísticamente significativas con los datos de los seis productos, (b) dos correlaciones cuantitativas estadísticamente significativas con los datos de cinco productos y (c) una correlación cuantitativa estadísticamente significativa con cuatro productos. Se observa, como se muestra en la Figura No. 26 que se obtiene una mejor correlación estadísticamente significativa entre la constante de disolución y la cantidad excretada en 1 h ($r = 0.91$) y, en la Figura No. 27 se presenta la correlación obtenida entre el logaritmo de la constante de disolución y la velocidad de excreción a 0.25 h ($r = 0.89$).

Se observó correlación por rangos de Sperman, estadís

TABLA L. CORRELACION IN VITRO - IN VIVO PARA SEIS PRODUCTOS COMERCIALES DE NITROFURANTOINA.

Parámetro		Coeficiente de correlación			
<u>In vitro</u>	<u>in vivo</u>	mínimos cuadrados		Spearman	
t ₅₀ Disolución	t _{1/2} fase Σ-	0.973	p<0.01	0.900	N.S.*
t ₂₅ Disolución	t _{1/2} fase Σ-	0.951	p<0.05	1.000	N.S.**
t ₅₀ Disolución	Cantidad excre- tada 1.5 h	0.949	p<0.05	-0.900	N.S.*
Cte. de Disolución	Velocidad excre- tada 0.25 h	0.892	p<0.05	0.765	N.S.
Cte. de Disolución	t _{1/2} fase Σ-	0.806	N.S.	-0.600	N.S.
Cte. de Disolución	Cantidad excre- tada 3.0 h	0.717	N.S.	0.771	N.S.
Desintegración	Cantidad excre- tada 10 h	0.766	N.S.	-0.914	p<0.05
Cte. de Disolución	Cantidad excre- tada 1 h	0.912	p<0.05	0.829	N.S.
Desintegración	t _{1/2} fase Σ-	0.442	N.S.	0.412	N.S.
% Disuelto 50 min.	Cantidad excre- tada 10 h	0.431	N.S.	0.702	N.S.
% Disuelto 150 min.	Velocidad de ex- creción 0.75 h	0.540	N.S.	0.829	N.S.
% Disuelto 60 min.	Cantidad excre- tada 10 h	0.523	N.S.	0.580	N.S.
% Disuelto 60 min.	t _{1/2} fase Σ-	0.067	N.S.	0.520	N.S.

* : correlación con 5 productos

** : correlación con 4 productos

t₅₀: tiempo en el que se disuelve el 50% del contenido promedio del lote.

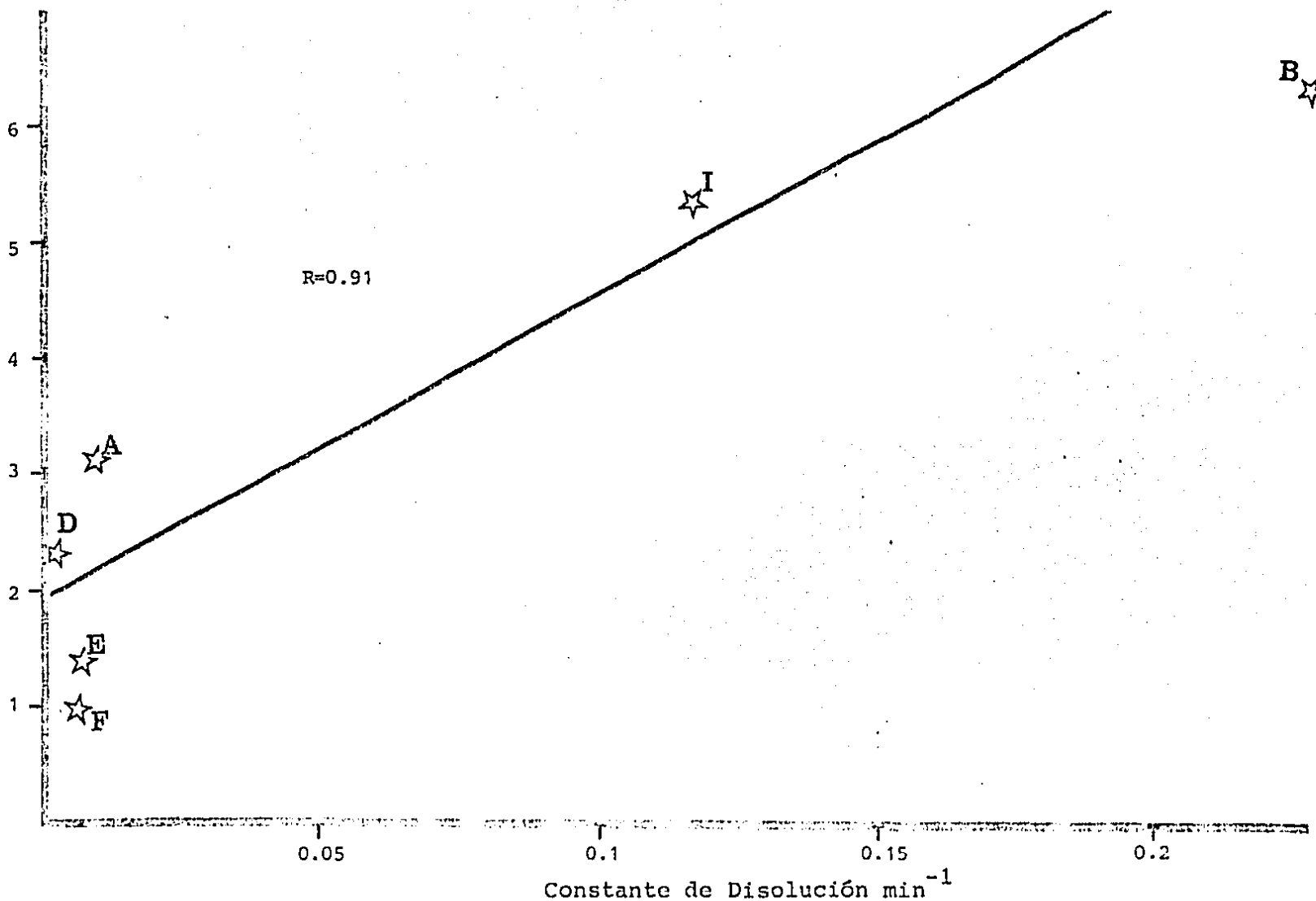


Figura No. 26 - Correlación lineal entre la cantidad acumulativa excretada después de 1 h contra la constante de velocidad de disolución (método de la USP XIX) para seis productos comerciales de Nitrofurantoína.

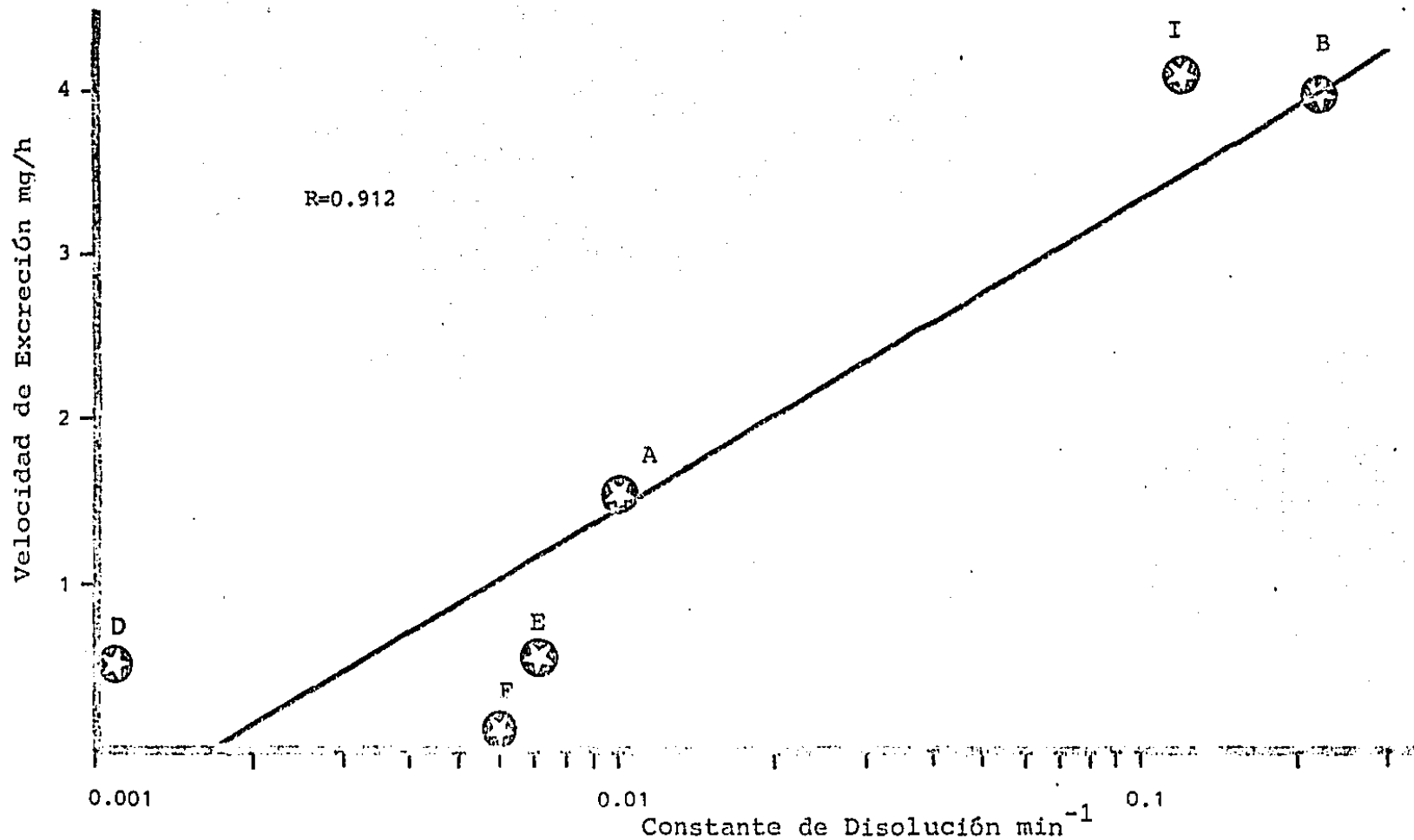


Figura No. 27 - Correlación lineal entre la velocidad de excreción 0.25 h después de la administración contra el logaritmo de la constante de disolución para seis productos comerciales de Nitrofurantoina.

ticamente significativa ($r = -0.941$), con todos los productos, entre el tiempo de desintegración y la cantidad excretada a las 10 h. También se puede considerar estadísticamente significativa la correlación por rangos de Sperman entre el t_{50} de disolución y la vida media de la fase logarítmico-líneal a pesar de contar con solo 5 datos experimentales de t_{50} debido a que este parámetro no se observa para el producto D por ser demasiado lenta su disolución.

En la Figura No. 28 se muestran las correlaciones in vitro - in vivo encontradas entre la cantidad disuelta a los 2.5, 5, 10, 15, 30 y 45 min. y la cantidad acumulativa excretada a 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 y 4.5 h respectivamente, después de la administración oral, como se observa en la Figura No. 28, aunque no se tomaron en cuenta los dos primeros puntos de las curvas de los productos I y B, las correlaciones mostradas son en general, altamente satisfactorias.

Mendes (39) encontró correlaciones cuantitativas de $r = 0.80$ entre la cantidad disuelta en 1 h y la cantidad excretada en 3 h, a $0.01 < p < 0.05$ y correlación de Sperman $r_s = 0.93$ a $0.01 < p < 0.05$. En este trabajo se muestra correlaciones más elevadas al mismo nivel de significancia (Tabla L).

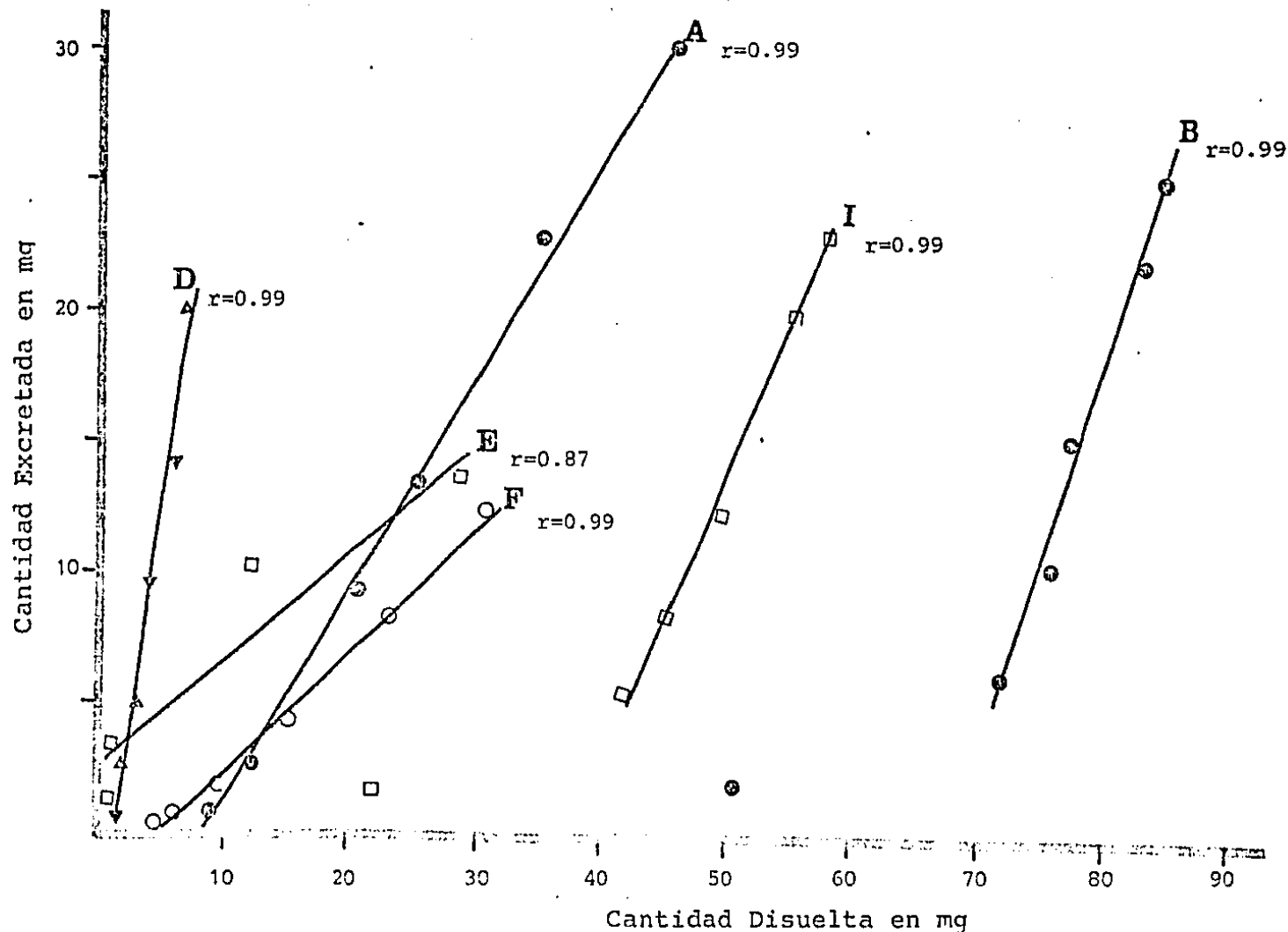


Figura No. 28 - Correlación de la cantidad media acumulativa disuelta en 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 30.0 y 45 min. contra la cantidad media acumulativa excretada a 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 y 4.5 h. después de la administración oral.

En conclusión, las correlaciones in vitro - in vivo encontradas indican que en estos productos de NTF (A, B, D, E, F, I) la velocidad de absorción, y por tanto su aparición en orina, esta limita por su velocidad de disolución, y predicha por el método de la USP XIX. En los productos estudiados, la cantidad absorbida y consecuentemente eliminada está correlacionada con su tiempo de desintegración. Se puede considerar a los productos E y F como bioinequivalentes ya que demostraron una cantidad acumulativa excretada promedio menor a la del Producto D.

VI. CONCLUSIONES

Se encontró que de ocho productos de NTF del mercado nacional los productos con la clave C, E y G no cumplen con el requisito de contenido especificado por la FNEUM, los productos C, F, H y G tienen un alto índice de variación de contenido, además, el producto G (comprimido), no se desintegra en el tiempo especificado por la FNEUM. Por lo tanto, sólo 3 de 8 productos del mercado nacional se puede considerar químicamente equivalentes. Por lo tanto los productos farmacéuticos nacionales de NTF con las claves C, E, F, G y H deberían retirarse del mercado ya que no cumplen las condiciones básicas de calidad.

Para llevar a cabo la prueba de disolución el método

espectrofotométrico usado en la determinación de NTF en SRF tiene una reproducibilidad adecuada c.v. de 3.09 y 0.77% para las concentraciones de 1 y 25 mcg/ml, respectivamente. El intervalo de concentración en que la determinación de Nitrofurantoína tiene su máxima precisión se encuentra entre 2 y 15 mcg/ml, el método es lineal hasta 25 mcg/ml, ($r^2 = 0.999$) y la mínima concentración detectable es de 0.32 mcg/ml, por las características de linealidad, reproducibilidad e intervalo de precisión el método espectrofotométrico para la determinación de NTF en SRF resulta adecuada para ser utilizado en la realización de la prueba de disolución.

Se evaluaron los perfiles de disolución de los 8 productos nacionales frente al producto innovador, Furadantin^R, de acuerdo al método de la USP (XVIII, XIX y XX) los productos farmacéuticos B, D, H y G no cumplen la especificación de la USP XIX de disolución. Se observó una gran variación en el comportamiento de disolución de los productos de NTF, las diferencias encontradas fueron hasta de 700 veces en la constante de velocidad de disolución (0.227 a 0.001 min^{-1}). Esta gran variación en el comportamiento de disolución se hace más evidente a partir del análisis de varianza realizado a los 60 y 150 min. De acuerdo a estos datos, y a los anteriormente mencionados, el producto I es el único producto de un total de 8 pro-

ductos del mercado nacional que es un equivalente farmacéutico al producto innovador, Furadantin.^R

El método espectrofotométrico nitrometano-hiamina (N-H) para la cuantificación de NTF en orina en los estudios de biodisponibilidad, depende de la concentración de KOH en la formación del complejo nitrometano-hiamina, se observa que un incremento en la concentración de KOH incrementa la absorbancia e inestabilidad del complejo.

Al comparar diferentes agentes acidificantes para la extracción de NTF se observó que no hay diferencia estadísticamente significativa en la precisión de las determinaciones usando cualquiera de estos acidificantes (HCl 0.2 N, solución saturada de sulfato de amonio y cristales de sulfato de amonio). Para que el método N-H sea lineal es necesario una relación molar NTF/hiamina menor a 1. Al cambiar el volumen extractor de 5 ml a 3 ml se incrementa la mínima concentración detectable a 1 mcg/ml. El método es lineal hasta 100 mcg/ml ($r^2 = 0.999$). La precisión del método va desde 26.5% a 1.5%, en el intervalo de concentraciones de 1 a 100 mcg/ml, respectivamente. El rango de máxima precisión se encuentra entre 7 y 75 mcg/ml y el porcentaje de recuperación de NTF en la orina en un intervalo de concentraciones de 1 a 52.6 mcg/ml se incrementa entre el 72.1% hasta el 97.4%, respectivamente. Es

tas características de sensibilidad, precisión y de especificidad (47), hacen que el método nitrometano-hiamina sea adecuado para ser usado en estudios de biodisponibilidad de NTF a partir de datos urinarios.

La determinación de NTF en sangre por el método nitrometano-hiamina carece de sensibilidad y precisión necesarias para llevar a cabo estudios de biodisponibilidad de NTF a partir de datos sanguíneos.

La vida media de eliminación de la NTF a partir de una administración i.v. de 50 mg encontrada con un intervalo del 95% de confianza alrededor del punto medio es de 13.5 ± 3.5 min.

Después de la administración oral de una solución acuosa de NTF de 100 mg/100 ml, en tres voluntarios y comparándolos estos resultados con los de la administración i.v. se puede observar que la NTF presenta un fenómeno de "Flip-Flop" ya que la absorción de la NTF tiene una vida media de 30.9 ± 3.5 min es el proceso más lento y la vida media residual (de la fase rápida) de 16.2 ± 1.1 min que es similar a 13.5 ± 3.5 min encontrados para la vida media de eliminación después de una administración i.v. Además con la validez estadística de una sola observación experimental, por primera vez se informa que la NTF sufre un efecto del primer paso del 34% al ser administrado por vía oral. Esta observación deberá comprobarse en una población mayor.

La biodisponibilidad del producto innovador ($n = 6$) relativa a una solución acuosa oral ($n = 3$) es de 79.35% y la vida media del proceso más lento es de 43 min lo cual indica que el proceso de disolución es el paso limitante en la farmacocinética de la NTF después de la administración oral de una formulación que necesite disolverse. En un primer cálculo de voluntarios necesarios para llevar a cabo estudios de bioequivalencia de NTF es de 25 para tener un poder en la prueba de análisis de varianza de 0.8.

Se determinó falta de bioequivalencia entre los productos Furadantin^R y el producto "D", la biodisponibilidad relativa del producto "D" fué de 47%. Se confirmaron los parámetros obtenidos anteriormente para el producto innovador, la $t_{1/2}$ del proceso más lento fué de 41 min (Figura No. 14), observándose el mismo valor para el producto "D". En un segundo cálculo del número necesario de voluntarios para llevar a cabo estudios de bioequivalencia de NTF es de 8 por cada formulación para tener una probabilidad del 80% de descubrir la diferencia en la biodisponibilidad del 20%.

En el estudio preliminar de bioequivalencia de 6 productos no se determinó bioinequivalencia entre los productos, sin embargo se determinó también que es necesario un

número de 8 voluntarios para detectar una diferencia del 20% en la biodisponibilidad con un 80% de confianza.

Se encontró correlación in vivo in vitro entre diferentes parámetros (Tabla L). De estas correlaciones se puede concluir nuevamente que la velocidad de disolución estudiada por el método de la USP XIX predice la velocidad de aparición de la NTF en orina, además, la cantidad excretada presentó correlación con el tiempo de desintegración en los productos estudiados. Se obtuvieron correlaciones altamente significativas entre las cantidades excretadas y las cantidades disueltas a diferentes tiempos para cada producto (Figura No. 28).

En estudios posteriores de bioequivalencia de NTF deberá considerarse la observación cuidadosa de efectos tóxicos secundarios como náusea, dolor de cabeza y vómito, ya que si la absorción es rápida, se pueden alcanzar niveles en sangre elevados, después de una administración oral de 100 mg. Además se deberán realizar estudios posteriores para determinar:

- a) La influencia del vaciamiento gástrico en la biodisponibilidad de la NTF, debido a que la NTF se absorbe preferentemente en el estómago y al hecho de que no se observa absorción después de las 8 h de la administración oral, de los productos absor

bidos incompletamente.

- b) El efecto del tipo de comida en la biodisponibilidad de NTF.
- c) El establecimiento completo de la farmacocinética de la NTF en el hombre (efecto de primer paso, dosis dependiente y parámetros de distribución y eliminación).
- d) El efecto del sueño en la biodisponibilidad de NTF.
- e) El efecto de la formulación, con excipientes nacionales en la biodisponibilidad de la NTF.

APENDICE I

CONTRAINDICACIONES, PRECAUCIONES Y REACCIONES ADVERSAS
DE LA NITROFURANTOINA EN HUMANOS.

CONTRAINDICACIONES.

Este fármaco está contraindicado en personas que han mostrado hipersensibilidad a la Nitrofurantoina (11). También está contraindicado en casos de anuria, oliguria o insuficiencia renal (depuración de creatinina mejor de 40 ml/min). El tratamiento de este tipo de pacientes puede aumentar el riesgo de toxicidad por verse impedida la excreción del fármaco y aumento en los niveles sanguíneos (24). También está contraindicado en pacientes "a término de embarazo", así como en infantes menores de un mes, por la posibilidad de anemia hemolítica debido a la inmadurez de los sistemas enzimáticos (17).

INCIDENCIA DE REACCIONES TOXICAS.

Las comunes después de la administración oral de nitrofurantoina son en el conducto gastrointestinal, que generalmente se manifiesta con náusea y vómito, pero ocasionalmente como diarrea, y/o dolor abdominal (12, 2, 16, 19); estas son reacciones reversibles después de suspender el

tratamiento con Nitrofurantoina. Generalmente se administra el medicamento con alimento para prevenir este tipo de reacciones (4). Ocasionalmente aparece dolor de cabeza asociado con la administración de la Nitrofurantoina. Disminuye la velocidad de administración i.v. o reduciendo la dosis oral se pueden evitar estos síntomas (8).

En un estudio de 757 tratamientos con Nitrofurantoina, en 70 casos los efectos colaterales fueron lo suficientemente severos como para ameritar la reducción de la dosis, o retirar el tratamiento; 31 de estos casos fueron alergias, incluyendo trastornos gastrointestinales, dermatológicos y hematológicos. Los efectos colaterales se presentaron dependiendo de la dosis, ocurriendo en el 1.6% de los casos, cuando la dosis era menor de 4 mg por Kg de peso y en un 23.6% para aquellos casos en que la dosis era mayor de 7 mg por Kg de peso. Las reacciones más frecuentes son en mujeres y se incrementan con el tiempo de exposición al fármaco (12).

ADVERTENCIAS.

La Nitrofurantoina puede producir anemia hemolítica. La hemólisis está asociada a la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en los eritrocitos de los pacientes afectados (3). Esta deficiencia se encuentra en

el 10% de los negroides y en un pequeño porcentaje de grupos étnicos del mediterráneo. Cualquier signo de hemólisis es una indicación para suspender el fármaco. La anemia hemolítica aparece asociada a pacientes con deficiencias de enolasa en eritrocitos (26), o glutatión-peroxidasa (28).

PRECAUCIONES.

También puede presentarse polineuropatía periférica en pacientes que están tomando Nitrofurantoína, pero es poco frecuente (20). En una revisión de 137 casos, los síntomas de neuropatías ocurren dentro de los primeros 45 días después del inicio de la terapia de mantenimiento. La recuperación depende del grado de alteración; este tipo de efecto colateral no tiene correlación con la dosis (29). Siendo del tipo sensorimotor produce parestesias y disestesias en la porción distal de las extremidades y que asciende de manera bilateral simétrica. Nunca disminuye la velocidad de conducción de los nervios periféricos, lo cual se ha demostrado en pacientes sin insuficiencia renal y con administración de Nitrofurantoína a las dosis recomendadas (29). Los pacientes que desarrollan polineuropatías frecuentemente tienen niveles elevados de urea en sangre y aparentemente todos muestran una disminución en la depuración renal (24). En casos de neuropatía por la Nitrofurantoína raramente se incluyen

nervios craneales (25). Las condiciones de predisposición son: falla renal, anemia, diabetes, desbalance electrolítico, deficiencia de vitamina B y debilidad (23).

REACCIONES ADVERSAS I.M.

Una cantidad variable de malestar en el sitio de inyección intramuscular. En algunos casos puede ser tan severa que haya necesidad de suspender la inyección intramuscular. (32).

SENSIBILIZACION.

Se han reportado reacciones pulmonares a Nitrofurantoina (22, 10, 5). Estas varían desde reacciones agudas hasta enfermedades crónicas con fibrosis. Generalmente se presentan varias formas de reacciones de hipersensibilización reversibles, aunque se ha reportado un caso de muerte (11). La reacción aguda se presenta entre las 2 hs. y los 10 días después de iniciado el tratamiento; generalmente consiste en fiebre, malestar, mialgias, dolor de cabeza, tos, pleuritis y leucocitosis. La eosinofilia es común, especialmente después del tratamiento clínico. Son frecuentes también los infiltrados fascial bilateral vistos radiográficamente y también se puede presentar efusión pleural. Edema intraalveolar, membrana hialina, y un infiltrado linfoplasmático con IgA en las células plás

máticas, observado en el caso fatal (6). En pacientes con uso prolongado de Nitrofurantoína se ha observado fi brosiintersticial, la que se presenta al principio una incidencia mayor que las reacciones agudas. Se ha demostrado existencia de anticuerpos IgG en pacientes que reciben Nitrofurantoína con o sin reacciones pulmonares (1, 21). El título de anticuerpos es generalmente en pa cientes con Nitrofurantoína y sobre todo en pacientes con alteración pulmonar (1, 4); estos síntomas de hipersensibilidad también se pueden manifestar por escalofríos, fiebre, palidez, síntomas asmáticos e hipertensión.

Desde 1959 y 1969 han sido publicados cerca de 200 reportes de sensibilidad pulmonar a Nitrofurantoína. En ocasiones ha sido necesario que muchos de los pacientes que han sufrido este tipo de reacciones reciban tratamien to no específico con corticosteroides o terapia con anti-histamínicos, (9).

Para mayor información acerca de las reacciones pulmonares debidas a la Nitrofurantoína se puede consultar una revisión de 1972 sobre estos aspectos (22).

TOXICIDAD HEPATICA

Se han reportado varias alteraciones en el hígado de pacientes que recibían Nitrofurantoína (13, 30), incluyen do ictericia colestática, degeneración hepatocelular y

parte de un síndrome parecido al lupus (18, 7).

OTRAS CONSIDERACIONES.

La Nitrofurantoína es ampliamente usada como antibacteriano de vías urinarias y ha sido evidente que en humanos causa disminución de la espermatogénesis cuando se administra a dosis altas (10 mg/kg) (20). También la Nitrofurantoína inhibe la movilidad in vitro de los espermatozoides y se ha sugerido durante la vasectomía en humanos.

La Nitrofurantoína no induce tumores (27).

No se han reportado casos de cristaluria por el uso de la Nitrofurantoína (14, 15).

REFERENCIAS: TOXICIDAD DE NITROFURANTOINA EN HUMANOS.

1. Back, O Liden, S., and Ahlstedt, S. (1977): Adverse reactions to Nitrofurantoin in relation to cellular and humoral immunoresponses. Clin. Exp. Immunol., 28: 400-406.
2. Bailey R.R. et al. (1971) Prevention of Urinary tract infection with low dose Nitrofurantoin. The Lancet Nov. P. 1112.
3. Burka, E.R. et al. Ann intern. Med. (1966) 64, 817.
4. Filts J. H., Hayes, D.M., Gergen, J.A., Toolej, F. (1971): Neural, Hematologic and Bacteriologic Effects of Nitrofurantoin in Renal Insufficiency. Am. J. Med., 51: 331-339.
5. Fisk, A.A. (1957): Anaphylactoid reaction to Nitrofurantoin N. Engl. J. Med., 256: 1054.
6. Geller, M., Dicke, H.E. Kass, D.A., Hafes, G.R., and Gillespie J.J. (1976): The histopathology of acute Nitrofurantoin-associated pneumonitis, Ann, Allegy, 37: 275 279.

7. Goldstein L.I. et al. (1974), Am. J. dig. Dis, 19, 987.
8. Grayson, C. y Brennan, R.V. (1954): Furadantin, J. Urol. 71: 650-654.
9. Hailey, F.J., Glascock, H.W., Jr., and Hewitt, W.F. (1969) Pleuropneumonic reactions to Nitrofurantoin, N. Engl. J. Med. 281: 1087-1090.
10. Israel, H.L., and Diamond. P. (1962): Recurrent Pulmonary infiltration and pleural effusion due to Nitrofurantoin sensivity., N. Engl. J. Med., 266: 1024-1026.
11. Khorssandium, R. y Nodine, J.H. (1963): Anaphylactic Reactions Caused by Treatment with Nitrofurantoin, J. Am. Mem. Ass. 184: 500-502.
12. Koch-Wese, J., Sidel, V.W., Dexter, M. Parish, C., Finer, D. C., and Kanarek, P. (1971): Adverse reactions to sulfisoxazole, sulfathoxazole and nitrofurantoin, Arch, Intern. Med. 128: 399-404.
13. Jokela, S. (1967): Liver disease due to Nitrofurantoin Gastroenterology, 53: 306-311.

14. Lian-Kaun, C., Cadwallader, D.E. and Jun, H.W. (1976): Nitrofurantoin Solubility in Aqueous Urea and Creatinine Solutions. J. Pharm. Sci. 65: 868-872.
15. McDonald, J.B., and McDonald, E.T. (1976): Nitrofurantoin crystalluria, Br. Med. J. 2: 1024-1045.
16. Miura, K., and Reckendorf, H.K. (1976): The nitrofurans In: Progress in Medical Chemistry, Vol. 5, edited by G.P. Ellis and G.B. West pp. 320-281. Plenum Press, New York.
17. Mosiman, W. Schweiz. (1975), Med. Wschr. 105, 257.
18. Murphy, K.J. and Innis, M.D., (1968), J. Am. Med. Ass. 204, 396.
19. Paul, H.E., and Paul, M.F. (1964): The nitrofurans Chemotherapeutics properties. In: Experimental Chemotherapy, Vol. 2, Part 1 edited by R.J. Schinzel and F. Hawking, pp. 307-370, Academic Press, New York.
20. Albert P.S. et al. (1975). The nitrofurans and Spermimmobilizing agents Fertil Steril 26: 485-91.
21. Pearsall, H.R., Ewalt J., Tsoi, M.S., Sumida, S.,

- Backus, D., Winterbauer., R.H., Webb, D.R. and Jones, H. (1974): Nitrofurantoin lung sensitivity: report of a case with prolonged nitrofurantoin lymphocyte sensitivity and interaction of nitrofurantoin lymphocytes with alveolar cells. J. Lab. Clin. Med. 83: 728-737.
22. Rosenow, E.C., DeRemee, R.A. y Dines, D.E. (1968): Chronic Nitrofurantoin Pulmonary Reaction. N. Engl. J. Med. 279: 1258-1262.
23. Rubenstein, C.J. y Durham, (1964): Peripheral Polyneuropathy Caused by Nitrofurantoin J. Am. Med. Ass. 187: 647-649.
24. Sachs, J., Ger, T., Noel, P., Kunin, C.M. (1968): Effect of renal function on urinary recovery of orally administered nitrofurantoin N. Engl. J. Med. 278: 1032-1035.
25. Sharma D.B. and A., James (1974) Br. Med. J. iv 771.
26. Stefanini, M. (1972): Chronic hemolytic anemia associated with erythrocyte enolase deficiency exacerbated by ingestion of nitrofurantoin Am. J. Clin. Pathol., 58: 408-414.
27. Stein, R.J., Yost, D., Petrolunas, F., and von Esch,

- A. (1966); Carcinogenic activity of nitrofurans, A. histologic evaluation Fed. Proc., 25: 291.
28. Steinberg, M., Brauner, M.J. and Necheles, T.F. (1970) Acute Hemolytic anemia associated with erythrocyte glutathione peroxidase deficiency Arch. Intern. Med. 125: 302-303.
29. Toole, J.F. and Parrish, M.L. (1973) Nitrofurantoin polyneuropathy. Neurology Minneap 23: 554-559.
30. Fagrell, B. Strandberg, I., and Wegle, B. (1976): A Nitrofurantoin-induced disorder simulating chronic active hepatitis Acta Med. 199: 237-239.
31. Cox, C.E., O'Connor, J.F. Lacy, S.S. (1971): Clinical effectiveness of intramuscular sodium Nitrofurantoin against urinary tract infections J. Urol. 105: 113-118.

Apéndice II

CARTA DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR COMO VOLUNTARIO
EN EL ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD DE MEDICAMENTOS DE NI-
TROFURANTOINA CONTENIENDO 100 mg EN EL COMERCIO NACIONAL.

NOMBRE DEL VOLUNTARIO: _____

PESO _____ EDAD _____ ESTATURA _____

¿Ha padecido enfermedades genito urinarias? _____

¿Es sensible usted a algún fármaco? _____

Por este medio hago constar y así consigno bajo mi firma, en pleno uso de mis facultades mentales, mi consentimiento para participar en forma voluntaria en un estudio de biodisponibilidad de productos comerciales de Nitrofurantoína de 100 mg; he sido informado sobre los peligros en que puedo incurrir al participar en esta investigación debido a la toxicidad de la Nitrofurantoína.

La información de la toxicidad de la Nitrofurantoína en humanos se adjunta a este documento, la cual he leído cuidadosamente.

Igualmente hago constar que seguiré fielmente las instrucciones que he recibido con respecto a la toma de medicamentos y recolección de muestras, según consta en el protocolo del cual esta hoja de consentimiento forma parte.

Asimismo, habrá un médico que supervisará la salud de las personas voluntarias para este estudio, por medio de signos vitales y de niveles normales, de acuerdo con los análisis clínicos realizados.

Fecha:

Nombre y firma del voluntario _____

Nombre y firma del médico _____

Nombre y firma de testigo _____

Nombre y firma de testigo _____

APENDICE III A. CARACTERISTICAS DE LOS VOLUNTARIOS PARA
EL ESTUDIO DE LA ADMINISTRACION ORAL DE
UNA SOLUCION DE 100 MG DE NITROFURANTOINA.

SUJETO	PESO (kg)	ESTATURA (m)	EDAD (AÑOS)
C.R.G.	63.5	1.71	31
J.M.R.	59.2	1.65	24
A.L.A.	72.0	1.70	27
Promedio	64.9	1.69	27.3

APENDICE III B. CARACTERISTICAS DE LOS VOLUNTARIOS PARA
EL ESTUDIO DE LA ADMINISTRACION ORAL DEL
PRODUCTO INNOVADOR DE NITROFURANTOINA.

SUJETO	PESO (kg)	ESTATURA (m)	EDAD (AÑOS)
C.R.G.	63.5	1.71	31
O.A.C.	74.0	1.70	25
R.L.C.	54.0	1.68	21
J.A.B.R.	60.6	1.60	21
J.M.R. ¹	59.3	1.65	24
A.L.A.	72.0	1.70	27
Promedio	63.9	1.67	24.8

APENDICE III C. CARACTERISTICAS DE LOS VOLUNTARIOS EN EL
ESTUDIO DE LA BIOEQUIVALENCIA DEL PRODUCTO INNOVADOR CONTRA EL PRODUCTO D.

SUJETO	PESO (kg)	ESTATURA (m)	EDAD (AÑOS)
A.L.A.	70.0	1.70	27
C.R.G.	63.5	1.71	31
J.M.R.	59.2	1.65	24
A.C.B.	63.0	1.72	20
Promedio	63.93	1.70	25.5

APENDICE III D. CARACTERISTICAS DE LOS VOLUNTARIOS EN EL ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DEL PRODUCTO INNOVADOR CONTRA CINCO PRODUCTOS NACIONALES.

SUJETO	PESO (kg)	ESTATURA (m)	EDAD (AÑOS)
A.C.B.	58.2	1.72	20
J.M.R.	59.2	1.65	24
C.C.R.	65.2	1.87	26
J.E.V.	72.0	1.70	19
A.L.A.	70.0	1.70	28
M.G.P.	71.0	1.80	26
Promedio	66.73	1.74	23.8

APENDICE IV A. PROMEDIO DE LOS DATOS URINARIOS DEL PRODUCTO "D" EN EL ESTUDIO CRUZADO COMPLETO DE 6 POR 6.

t (h)	$\Delta Ae/\Delta t$ (mg/h)	Ae (mg)	$(1-Ae/Ae_{\infty})100$
0.0-0.5	0.55(0.57)	0.32(0.29)	98.17(90.78)
0.5-1.0	2.34(2.24)	1.44(1.34)	91.74(85.56)
1.0-1.5	4.82(4.12)	3.85(3.21)	77.92(64.95)
1.5-2.0	5.35(4.13)	6.78(4.86)	61.12(43.86)
2.0-3.0	4.06(3.16)	10.73(6.88)	38.47(24.66)
3.0-4.5	1.90(1.20)	13.60(6.39)	22.01(10.33)
4.5-6.0	1.75(2.20)	16.23(6.16)	6.96(2.64)
6.0-8.0	0.65(0.49)	17.23(5.90)	0.69(0.23)
8.0-10.0	0.60(0.11)	17.44(5.75)	-- --

t = Intervalo de toma de muestra.

$\Delta Ae/\Delta t$ = Velocidad de excreción urinaria.

Ae = Cantidad acumulativa excretada.

$(1-Ae/Ae_{\infty})100$ = Por ciento remanente para ser excretado.

APENDICE IV B. PROMEDIO DE LOS DATOS URINARIOS DEL PRODUCTO INNOVADOR "A" EN EL ESTUDIO CRUZADO COMPLETO DE 6 POR 6.

t (h)	$\Delta Ae/\Delta t$ (mg/h)	Ae (mg)	$(1-Ae/Ae_{\infty})100$
0.0-0.5	1.40 (1.22)	0.70 (0.61)	97.99 (85.12)
0.5-1.0	4.62 (3.43)	4.14 (2.42)	90.96 (70.08)
1.0-1.5	9.25 (6.96)	9.20 (2.98)	73.55 (23.83)
1.5-2.0	10.93 (5.88)	13.34 (6.55)	61.65 (30.28)
2.0-3.0	10.56 (2.98)	23.94 (9.13)	31.17 (11.89)
3.0-4.5	4.44 (3.22)	30.27 (6.45)	12.99 (2.76)
4.5-6.0	1.84 (1.30)	33.11 (5.64)	4.83 (0.82)
6.0-8.0	0.22 (0.15)	34.79 (4.99)	-- --
8.0-10.0	0.00 (0.00)	34.79 (4.99)	-- --

t = Intervalo de toma de muestra.

$\Delta Ae/\Delta t$ = Velocidad de excreción urinaria.

Ae = Cantidad acumulativa excretada.

$(1-Ae/Ae_{\infty})100$ = Por ciento remanente para ser excretado.

APENDICE IV.C. PROMEDIO DE LOS DATOS URINARIOS DEL PRO
DUCTO "F" EN EL ESTUDIO CRUZADO COMPLE-
TO DE 6 POR 6.

t (h)	$\Delta Ae/\Delta t$ (mg/h)	Ae (mg)	$(1-Ae/Ae_{\infty})100$
0.0-0.5	0.04(1.00)	0.02(0.05)	99.89(224.79)
0.5-1.0	1.61(0.95)	0.96(0.61)	94.66(60.19)
1.0-1.5	3.40(2.16)	2.07(1.05)	88.52(44.90)
1.5-2.0	3.89(1.97)	4.67(2.46)	74.09(39.05)
2.0-3.0	3.92(3.43)	8.77(4.92)	51.35(28.82)
3.0-4.5	2.94(1.63)	12.32(6.11)	31.71(15.74)
4.5-6.0	1.33(0.92)	16.59(5.02)	8.01(2.24)
6.0-8.0	0.59(0.76)	17.9(5.98)	0.77(0.25)
8.0-10.0	0.07(0.11)	18.04(5.99)	-- --

t = Intervalo de toma de muestra

$\Delta Ae/\Delta t$ = Velocidad de excreción urinaria

Ae = Cantidad acumulativa excretada

$(1-Ae/Ae_{\infty})100$ = Por ciento remanente para ser excretado

APENDICE IV D. PROMEDIO DE LOS DATOS URINARIOS DEL PRODUCTO "B" EN EL ESTUDIO CRUZADO COMPLETO DE 6 POR 6.

t (h)	$\Delta Ae/\Delta t$ (mg/h)	Ae (mg)	$(1 - Ae/Ae_{\infty}) 100$
0.0-0.5	3.95 (3.02)	1.97 (1.51)	92.82 (70.91)
0.5-1.0	8.71 (4.39)	6.39 (3.38)	76.99 (41.18)
1.0-1.5	9.68 (4.81)	10.36 (5.03)	62.32 (30.30)
1.5-2.0	9.63 (5.21)	15.67 (6.23)	43.01 (9.76)
1.0-3.0	6.71 (3.64)	22.38 (8.63)	18.59 (7.17)
3.0-4.5	2.83 (2.22)	25.89 (8.47)	5.83 (1.91)
4.5-6.0	2.00 (2.43)	27.22 (7.66)	0.99 (0.28)
6.0-8.0	0.26 (0.15)	27.45 (7.44)	
8.0-10.0	0.00 (0.01)	27.49 (7.43)	

t = Intervalo de toma de muestra.

$\Delta Ae/\Delta t$ = Velocidad de excreción urinaria.

Ae = Cantidad acumulativa excretada.

$(1 - Ae/Ae_{\infty}) 100$ = Por ciento remanente para ser excretado.

APENDICE IV E. PROMEDIO DE LOS DATOS URINARIOS DEL PRODUCTO "I" EN EL ESTUDIO CRUZADO COMPLETO DE 6 POR 6.

t (h)	$\Delta Ae/\Delta t$ (mg/h)	Ae (mg)	$(1-Ae/Ae_{\infty})100$
0.0-0.5	4.10 (3.23)	2.05 (1.61)	91.99 (72.39)
0.5-1.0	7.72 (6.52)	5.47 (5.08)	78.63 (73.07)
1.0-1.5	7.75 (2.28)	8.66 (4.28)	66.15 (50.58)
1.5-2.0	9.83 (1.70)	12.42 (3.88)	51.48 (16.09)
2.0-3.0	7.17 (6.77)	20.32 (7.98)	20.62 (8.10)
3.0-4.5	2.36 (0.95)	23.56 (8.72)	7.99 (2.96)
4.5-6.0	1.14 (1.24)	25.27 (9.05)	1.30 (0.46)
6.0-8.0	0.14 (0.13)	25.56 (9.13)	-- --
8.0-10.0	0.02 (0.04)	25.60 (9.16)	-- --

t = Intervalo de toma de muestra

$\Delta Ae/\Delta t$ = Velocidad de excreción urinaria.

Ae = Cantidad acumulativa excretada.

$(1-Ae/Ae_{\infty})100$ = Por ciento remanente para ser excretado.

APENDICE IV F. PROMEDIO DE LOS DATOS URINARIOS DEL PRODUCTO "E" EN EL ESTUDIO CRUZADO COMPLETO DE 6 POR 6.

t (h)	$\Delta Ae/\Delta t$ (mg/h)	Ae (mg)	$(1-Ae/Ae_{\infty})100$
0.0-0.5	0.56 (0.57)	0.32 (0.29)	98.17 (90.78)
0.5-1.0	2.34 (2.24)	1.44 (1.34)	91.74 (85.56)
1.0-1.5	4.8 (4.12)	3.85 (3.21)	77.92 (64.95)
1.5-2.0	5.35 (4.14)	6.78 (4.87)	61.12 (43.86)
2.0-3.0	4.06 (3.16)	10.73 (6.88)	38.47 (24.66)
3.0-4.5	1.91 (1.21)	13.60 (6.39)	22.01 (10.33)
4.5-6.0	1.75 (2.20)	16.23 (6.16)	6.96 (2.64)
6.0-8.0	0.65 (0.49)	17.32 (5.90)	0.69 (2.23)
8.0-10.0	0.60 (0.11)	17.44 (5.75)	-- --

t = Intervalo de toma de muestra.

$\Delta Ae/\Delta t$ = Velocidad de excreción urinaria.

Ae = Cantidad acumulativa excretada.

$(1-Ae/Ae_{\infty})100$ = Por ciento remanente para ser excretado.

APENDICE V. CALCULOS DEL ANALISIS DE VARIANZA DEL ESTUDIO DE DOS VIAS DE LA CANTIDAD ACUMULATIVA EXCRETADA A LAS 10 HS.

Grupo	Sujeto	INNOVADOR	PRODUCTO "D"	Total Sujetos
I	1	35.64 (semana II)	16.71 (semana I)	$S_1 = 52.35$
	2	36.50 suma = 72.14	24.96 suma = 41.67	$S_2 = 61.46$
II	3	39.80 (semana I)	11.86 (semana II)	$S_3 = 51.66$
	4	29.61 suma = 69.41	13.07 suma = 24.93	$S_4 = 42.68$
				Suma Total = 208.15
Tratamiento ₁		$= 72.14 + 69.41 = 141.55$	Tratamiento ₂	$= 41.67 + 24.93 = 66.60$
Semana ₁		$= 41.67 + 69.41 = 111.08$	Semana ₂	$= 72.14 + 24.93 = 97.07$
Grupo ₁		$= 52.35 + 61.46 = 113.81$	Grupo ₂	$= 51.66 + 42.68 = 94.34$
Suma		Factor de corrección = $(208.15)^2 / 8 = 5415.80$		
SUMA DE CUADRADOS				
Grupo	Sujeto	INNOVADOR	PRODUCTO "D"	
I	1	1270.21	279.22	
	2	1332.25 suma = 2602.45	623.00 suma = 902.22	
	3	1584.04	140.66	
II	4	876.76 suma = 2460.80	170.82 suma = 311.82	
				Suma total de cuadrados = 6277.29
SS _{total} = 6277.29 - 5415.80 = 861.48				
SS _{tratamientos} = $(141.55)^2 + (66.60)^2 / 4 - 5415.80 = 702.51$				
SS _{sujetos} = $(52.35)^2 + (61.46)^2 + (51.66)^2 + (42.68)^2 - 5415.80 = 88.29$				
SS _{semana} = $(111.08)^2 + (97.07)^2 - 5415.80 = 24.53$				
SS _{residual} = 861.16 - (702.51 + 88.29 + 24.53) = 45.83				
SS _{grupos} = $(113.81)^2 + (94.34)^2 / 2 - 5415.80 = 47.38$				
SS _{sub/grupo} = 88.29 - 47.38 = 40.90				

VII. BIBLIOGRAFIA.

- 1) Deasy, P.B. and Timoney, R.F. "The Quality Control of Medicine" Proceeding of the 35 th International Congress of Pharmaceutical Sciences Dublin (1975) Elsevier, Scientific Publishing Co. Amsterdam The Netherlands (1976).
- 2) Cadwallader, D.E. and Swarbrick J. (1975) "Nitrofurantoin" Bioavailability monograf, American Pharmaceutical Association, U.S.A. January.
- 3) Jaffe, J.M. (1975) "Effect of propantheline on nitrofurantoin absorption" J. Pham. Sci. 64, 1729-1730.
- 4) Wagner, J.G. (1971) "Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics" Drug Intelligence Publications, Inc., Illinois, E.U.A.
- 5) Federal Register (1977) 42, 1624-1653.
- 6) Kalowski, S., Rendford, N., and Kencaid-Smith, P. (1974) "Cristalline and macrocristalline nitrofurantoin in the treatment of urinary tract infection" Med. Intell. 290, 285-387.
- 7) Paul, H.E., Hayes, K.J., Paul, M.F. and Borgman, A. R. (1967) "Laboratory studies with nitrofurantoin relationship between crystal size, arinary excretion in the rat and man, and emesis in dogs. J. Pharm. Sci. 56, 882-885.
- 8) Conklin, J.D., Sobers, R.J. and Wagner, D.L. (1969) "Urinary drug excretion in dogs during therapeutics

doses of different nitrofurantoin dosage forms" J. Pharm. Sci. 58, 1365-1368.

- 9) McGilveray, I.J., Mattok, G.L. and Hossie, R.D. (1973) "The comparison of the bioavailabilities of comercial nitrofurantoin tablets" Revue. Can. Biol. 32 suppl. pp 99-106.
- 10) Meyer, M.C., Slywka, G.W.A., Dann, R.E. and Wyatt (1974) P.L. "Bioavailability of 14 nitrofurantoin products" J. Pharm. Sci. 63, 1693-1698.
- 11) Bates, T.R., Sequeira, J.A. and Tembo, A.V. (1974) "Effect of food on nitrofurantoin absortion" Clin. Pharm. Ther. 16, 63-68.
- 12) DiSanto, A.R., Chodos, D.J., Phillips, J.P., Desante, K.A. and Stoll, R.G. (1976) "Clinical Bioavailability of Nitrofurantoin a case of bioinequivalence" Int. J. Clin. Pharmacol. and biopharm. 13, 220-227.
- 13) Bates, T.R., Young, J.M., and Rosenberg, H.A. (1974) "pH dependent dissolution rate of nitrofurantoin from comercial suspensions, tablets and capsules" J. Pharm. Sci. 63, 643-645.
- 14) Rosenberg, H.A. (1975) "Biopharmaceutical studies on nitrofurantoin" Diss, Abst. Int. (b) 36, 1158-B-1159 B.
- 15) Cadwallader, D.E., Jun, H.W. and Chen, L. (1975) "Nitrofurantoin solubility in aguos urea solutions" J. Pharm. Sci. 64, 886-887.

- 16) Hossie, R.D., McGilveray, I.J., Mattok, G.L. and Mainville, C.A. (1973) "Compendial dissolution characteristics of commercial formulations" Can. J. Pharm. Sci. 8, 37-42.
- 17) Kristoffersson, E. and Rasilainen, M. (1974) "In vitro availability of nitrofurantoin from different tablet batches" Drug Div. Comm. 1, 567-573.
- 18) Mattok, G.L., Hossie, R.D. and McGilveray, I.J. (1972) "In vivo-in vitro studies of nitrofurantoin tablets" Can. J. Pharm. Sci. 7, 84-87.
- 19) Rosenberg, H.A. and Bates, T.R. (1976) "The influence of food on nitrofurantoin bioavailability" Clin. Pharm. Ther. 20, 227-232.
- 20) Conklin, J.D. (1978) "The pharmacokinetics of nitrofurantoin and its related-bioavailability" Antibiotics Chemother. 25, 233-252.
- 21) The United States Pharmacopeia, 18 th Rev., Mack Publishing Co. Easton (1970) Pa. 450.
- 22) Code of Federal Regulations 21, Food and Drug Part 314 april (1979) (Office of Federal Register National Services Administration U.S.A.
- 23) United States Pharmacopeia XIX (1975) 19 ed. Mack. Pub. Co. Easton Pennsylvania, P. 341.
- 24) Arenas, G.R.A. (1977) "Estudio comparativo de las características de disolución de medicamentos con problemas de biodisponibilidad" Tesis Profesional I.P.N. México.

- 25) Reckendorf, H.K., Castringius, R.G. and Spingler, H. K. "Comparative Pharmacodynamics, urinary excretion, and half life determinations of nitrofurantoin sodium" (1963) *Sylverter Antimicrobial agents and chemotherapy*, p 531-537 (Am. Society for Microbiology Ann Arbor).
- 26) Turk, M. Ronald, A.R. and Petersdorf, R.G. (1967) "Susceptibility of enterobacteriaceae to nitrofurantoin correlated with eradication of bacteriuria in Habby Antimicrobial agents and Chemotherapy p. 446-456 (Am. Society for Microbiology, Ann Arbor).
- 27) Stamey, T.A., Govan, D.E. and Palmer, T.M. (1965) "The localization and treatment of urinary tract infections, the role of bactericidal urine levels and opposed to serum levels", Medicine Baltimore 44, 1-46.
- 28) Endo, H., Ischizawa, M., Kammya, and Kuwano, M. (1963) "Nitrofurans and inducing agents for phage development in lysogenic Escherichia coli" Biochim. Biophys. Acta. 68, 502-505.
- 29) Biviai G. and Lazzereti, V. (1971) "Pharmacokinetics study of nitrofurantoin using selected-mesh macrocrystals" Clin. Ter. 56, 361-368 (1971).
- 30) McGilveray, I.J., Mattok, G.L. and Hossie, R.D. (1971) "The comparison of bioavailabilities of commercial nitrofurantoin tablets" J. Pharm. Pharmacol 23, 346 (1971).
- 31) Buzard, J.A. and Conklin, J.D. (1965) "A comparison of concentrations of certain nitrofurans in the aqueous humour and cerebrospinal fluid of the dog" Br. J. Pharmacol. 24, 266-273.

- 32) Buzard J.A., Conklin, J.D. and Buller, R.H. (1961) "Lymphatic transport of selected nitrofurantoin derivatives in the dog" Am. J. Physiol 201, 492-494.
- 33) Veronese, M., Salvaterra, M., Barzaghi, D. and Setnikar, I (1974): "Urinary excretion in the rat of nitrofurantoin (NF) and Nitrofurantoin (NTF) administered by different routes" Arzneimittel-Forsch. 24, 39-43.
- 34) Fauli, C., Parera, E. and Gabarro, P. "Tableting II general instrumentation principles" Cien. and Ind. Farm. 7, 334-343.
- 35) Boemel, W. Kientz, M. and Sauer, W. (1969) "Studies on rectal absorption of nitrofurantoin" Arzneimittel Forsh 19, 333-336.
- 36) Stoll, G.R., Bates, R.T., Swarbrick (1975) "In vitro dissolution and in vivo absorption of nitrofurantoin from deoxycholic acid coprecipitates" J. Pharm. Sci. 62, 334-343.
- 37) Koch-Weser, J., Sidel, V. W. (1971) Dexter, M. Parish, C., Finer, D.C. and Kanarek. P. "Adverse reactions to sulfisoxazole, and nitrofurantoin, manifestation and specific, reaction rates during 2, 118 courses of therapy" Archs. Intern. Med. 128, 399-404.
- 38) Mazza, A., and Hecht-Lucari, G. (1961) "Urinary excretion blood levels, and toxicity in humans of the intramuscular and intravenous routes" Antibiotics Chemother. 11, 434-437.
- 39) Mendes, R.W., Masih, S.Z., and Kanumuri, R.R., (1978) "Effect of formulation and process variables on Bio-

equivalency of nitrofurantoin II, In vitro - In vivo correlation" J. Pharm. Sci. 67, 1615-1698.

- 40) Shirley, S.E., and Ozog, L.S. (1970) "Improved gastrointestinal tolerance to nitrofurantoin in the macro-crystal" from. Urol. Dig. 9, 8-10.
- 41) Meyer, M.C., Slywka, G.W.A., Dann, R.E. and Whyatt, P.L. (1974) "Bioavailability of 14 nitrofurantoin products" J. Pharm. Sci. 63, 1693-1698.
- 42) Rodríguez, R.S. "Aspectos biofarmacéuticos de Nitrofurantoina" Tesis Profesional, U.N.A.M., México (1979).
- 43) Kakemi, K., Sezaki, H. and Fujioka, H. (1967) "Biopharmaceutical studies on nitrofurantoin derivatives, intestinal absorption of nitrofurantoin derivatives" Yakuzai-gaku 27, 301-304.
- 44) British Pharmacopeia, Pendragon, Palo Alto, Ca. US. Distributor, (1973).
- 45) Cox, D.C., Douglas, C.C., Furman, W.B. Kirchoefer, D. R., Myrick, W.J. and Wells, C.E. (1979) "Guidelines for dissolution testing" Pharm. Technol. Inter. 1, 37-49.
- 46) Conklin, J.D. and Hollifield, R.D. (1965) "A new method for the determination of nitrofurantoin in urine" Clin. Chem. 11, 925-931.
- 47) Conklin, J.D. and Hollifield, R.D. (1966) "The specificity of the nitromethane-hyamine procedure for the determination of nitrofurantoin in urine" Clin. Chem. 12, 632-633.

- 48) Mattok, G.L., McGilveray, I.J. and Charette, C. (1970) "Improved nitromethane hyamine method for the chemical determination of nitrofurantoin in whole blood" Clin. Chem. 16, 820-823.
- 49) Ayres, H.G. "Análisis Químico Cuantitativo" Harper and Row Publishers, Inc. México (1968).
- 50) Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos 4a. Ed. (1974) Secretaría de Salubridad y Asistencia México.
- 51) Wagner, J.G. (1969) "Interpretation of Percent Dissolved Time Plots Derived from In Vitro Testing of conventional Tablets and Capsules" J. Pharm. Sci. 58, 1254-1257.
- 52) Gibaldi, M. and Perrier, D. (1975) "Pharmacokinetics, Drug and the Pharmaceutical Sciences" Marcel Dekker, INC. U.S.A.
- 53) Harrison, J. Lewis, D.A. and Acill, R.J. (1973) "Spectrophotometric determination of nitrofurantoin in blood and urine" Analyst, 98, 146.
- 54) Aufrere, B.M., Honer, B. and Vore, E.M. (1977) "High-Performance Liquid-Chromatographic assay for nitrofurantoin in plasma and urine" Clin. Chem. 23, 2207-2212.
- 55) Albert, K.S., Sedman, A.J., Wilkinson, P. Stoll, R. G., Murray, W.J. and Wagner, J.G. (1974) "Bioavailability studies of acetaminophen and nitrofurantoin" J. Clin. Pharmacol. 14, 264-270.

- 56) United States Pharmacopeia XX (1980) 20 ed. Mack. Pub. Co. Easton Pennsylvania, p. 550.
- 57) Goldstein, A. (1964) "Bioestatics an introduction test" Macmillan U.S.A. pp. 144.
- 58) Wagner, J.G. (1975) "Fundamentals of clinical pharmacokinetics" Drug Intelligence Publications, Inc. Illinois, E.U.A.
- 59) Cochran, W.G. and Cox, G.M. (1976) "Diseños Experimentales" Trillas, México.
- 60) Dixon, J.W. and Massey, F.J. (1975) "Introducción al Análisis estadístico" McGraw-Hill, México.
- 61) Guidelines for Biopharmaceutics Studies in Mann (1973) American Pharmaceutical Association (1973).
- 62) Bron, J., Vree, T.B., Damsma, J.E., Hekster, Y. A., and Kleijn, E.V. (1979) Arzneim. Forsh/Drug Res. 29, 1614-1620.
- 63) Snedecor, G.W., Cochran, W.G. (1974) "Statistical Methods" Sixth edition the Iowa States University Press, U.S.A.
- 64) Mattok, G.L., McGilveray, I.J. and Charette, C. (1970) "Improved nitrometane hyamine method for the chemical determination of nitrofurantoin in whole blood" Clin. Chem. 16, 820-823.