



6  
201

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"**

**" DISOLUCION COMPARATIVA DE FENITOINA  
UTILIZANDO CLAR Y ESPECTROFOTOMETRIA UV  
COMO METODOS ANALITICOS "**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER 'EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO  
P R E S E N T A ,  
MARIA LUISA ARGUELLO GONZALEZ**

MEXICO, D. F.

1995

**FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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


**JURADO ASIGNADO SEGUN EL TEMA :**

<b>PRESIDENTE</b>	M. en C. HELGI JUNG COOK
<b>VOCAL</b>	Q.F.B. MAURO ARRIETA SANCHEZ
<b>SECRETARIO</b>	Q.F.B. CESAR ESCAMILLA FLORES
<b>SUPLENTE</b>	Q.F.B. LETICIA CRUZ ANTONIO
<b>SUPLENTE</b>	Q.F.B. ROSA MA. CRUZ HERNANDEZ

**SITIO EN DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:**

Laboratorio de Biofarmacia, Departamento de Farmacia de la División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM.

Sustentante

  
\_\_\_\_\_  
María Luisa Argüello González

Asesor del tema

  
\_\_\_\_\_  
M. en C. Helgi Jung Cook

## **DEDICATORIAS**

### **A Dios**

Por darme la vida y la capacidad  
para alcanzar uno de mis sueños.

### **A mis padres**

Por todo su cariño, por su apoyo  
en todo momento y por la confianza  
que siempre tuvieron en mí para  
poder alcanzar algo tan importante.

### **A Martín**

Por todo su cariño y apoyo  
y por ser uno de mis  
motivos para seguir adelante

### **A mis amigas**

Por su apoyo y colaboración,  
pero sobre todo por su amistad  
que es lo mejor que se puede recibir.

## INDICE GENERAL

### Introducción

### I Generalidades

1.1	Disolución	1
1.2	Importancia	1
1.3	Teorías de Disolución	2
1.4	Prueba de Disolución	5
1.5	Factores que afectan la velocidad de disolución	6
1.6	Cinética de Disolución	7
2.0	Características del principio activo	10
2.1	Propiedades Farmacológicas	11
	a) Actividad Farmacológica	11
	b) Absorción	11
	c) Metabolismo y Eliminación	12
	d) Distribución	12
	e) Toxicidad	12
	f) Disolución	13
	g) Dosificación	15
	h) Formas farmacéuticas	15
2.2	Generalidades de Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)	16
2.3	Generalidades de Espectrofotometría UV	18
2.4	Validación de Métodos Analíticos	20

II	Planteamiento del Problema	23
----	----------------------------	----

III	Objetivos	24
-----	-----------	----

IV	Hipótesis	25
----	-----------	----

## **V Parte Experimental**

<b>5.1</b>	<b>Material y Equipo</b>	<b>26</b>
<b>5.2</b>	<b>Selección de los medicamentos</b>	<b>27</b>
<b>5.3</b>	<b>Pruebas de control de calidad</b>	<b>28</b>
5.3.1	Identidad	28
5.3.2	Tiempo de desintegración	29
5.3.3	Friabilidad	29
5.3.4	Variación de peso	30
5.3.5	Dureza	30
5.3.6	Uniformidad de contenido	30
5.3.7	Valoración del principio activo	31
<b>5.4</b>	<b>Validación del método UV para el estudio de disolución de cápsulas y tabletas</b>	<b>33</b>
5.4.1	Método analítico por espectrofometría UV para la cuantificación de Fenitoína en el medio de disolución	33
5.4.2	Método analítico por CLAR para la cuantificación de Fenitoína en el medio de disolución	33
a)	Linealidad del sistema	34
b)	Linealidad del método	34
c)	Exactitud y Repetibilidad al 100 %	34
d)	Precisión (Repetibilidad en diferentes días)	35
<b>5.6</b>	<b>Estudio de disolución</b>	<b>37</b>

## **VI Resultados y Análisis**

<b>6.1</b>	<b>Control de calidad de los productos estudiados</b>	<b>39</b>
------------	---	-----------

<b>6.2</b>	<b>Validación del método espectrofotométrico para el estudio de disolución</b>	<b>41</b>
	A) Linearidad del sistema	41
	B) Linearidad del método	43
	C) Exactitud y Repetibilidad al 100 %	45
	D) Precisión (Repetibilidad en diferentes días)	45
<b>6.3</b>	<b>Validación del método cromatográfico para el estudio de disolución</b>	<b>46</b>
	A) Linearidad del sistema	46
	B) Linearidad del método	48
	C) Exactitud y Repetibilidad al 100 %	50
	D) Precisión	50
<b>6.4</b>	<b>Estudio de disolución</b>	<b>51</b>
	A) Cinética de disolución	62
<b>6.5</b>	<b>Evaluación de Métodos Analíticos y Proveedores</b>	<b>65</b>
<b>VII</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>68</b>
<b>VIII</b>	<b>Bibliografía</b>	<b>69</b>
<b>IX</b>	<b>Apéndice I Modelo estadístico empleado para el análisis de resultados de tabletas</b>	<b>73</b>
	<b>Apéndice II Modelo estadístico para el análisis de resultados de cápsulas</b>	<b>74</b>

## INDICE DE TABLAS

I.	Clave de los productos empleados en el estudio.	27
II.	Resultados de los análisis de control de calidad de los productos estudiados.	40
III.	Resultados de la linealidad del sistema espectrofotométrico.	41
IV.	Resultados de la linealidad del método espectrofotométrico.	43
V.	Resultados de la Repetibilidad para el método espectrofotométrico.	45
VI.	Resultados de la Exactitud del método espectrofotométrico.	45
VII.	Resultados de la Precisión del método espectrofotométrico.	45
VIII.	Resultados de los valores de la linealidad del sistema cromatográfico.	46
IX.	Resultados de la linealidad del método cromatográfico.	48
X.	Resultados de la Repetibilidad para el método cromatográfico.	50
XI.	Resultados de la Exactitud para el método cromatográfico.	50
XII.	Resultados de la Precisión para el método cromatográfico.	50
XIII.	Resultados del porcentaje disuelto obtenido al cuantificar Fenitoína por espectrofotometría UV.	51
XIV.	Resultados del porcentaje disuelto obtenido al cuantificar Fenitoína por CLAR.	53



<b>XV.</b>	<b>Valores de constantes de disolución obtenidas para ambos métodos analíticos.</b>	<b>63</b>
<b>XVI.</b>	<b>Valores de tiempo medio de disolución y vida media de los productos estudiados por ambos métodos analíticos.</b>	<b>64</b>
<b>XVII.</b>	<b>Resultados del análisis para determinar si existe diferencia entre métodos analíticos.</b>	<b>65</b>
<b>XVIII.</b>	<b>Resultados del análisis para determinar si existe diferencia entre productos del mercado nacional.</b>	<b>65</b>
<b>XIX.</b>	<b>Valores del análisis estadístico obtenidos en la prueba de Fisher.</b>	<b>66</b>
<b>XX.</b>	<b>Resultados del análisis estadístico realizado para evaluar cápsulas.</b>	<b>67</b>

## INDICE DE FIGURAS

1.	Estructura de Fenitoína Sódica.	10
2.	Clasificación de los métodos cromatográficos.	16
3.	Componentes básicos de un sistema de cromatografía de líquidos de alta resolución.	17
4.	Método de valoración de principio activo por CLAR para cápsulas y tabletas.	32
5.	Método de preparación de la curva de calibración usando espectrofotometría UV.	36
6.	Método de preparación de la curva de calibración usando CLAR.	36
7.	Procedimiento empleado para la prueba de disolución de Fenitoína utilizando espectrofotometría UV y CLAR.	38
8.	Gráfica de la linealidad del sistema espectrofotométrico.	41
9.	Gráfica de la linealidad del método espectrofotométrico.	44
10.	Gráfica de la linealidad del sistema cromatográfico.	47
11.	Gráfica de la linealidad del método cromatográfico.	49
12.	Gráfica de los perfiles de disolución de los productos estudiados por el método espectrofotométrico.	52
13.	Gráfica de los perfiles de disolución de los productos estudiados por el método cromatográfico.	54
14.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto A 1.	55
15.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto A 2.	55

16.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto B 1.	56
17.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto B 2.	56
18.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto C 1.	57
19.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto C 2.	57
20.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto D 1.	58
21.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto D 2.	58
22.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto E 1	59
23.	Perfil de disolución comparativo entre métodos analíticos para el producto E 2.	59
24.	Comparación de UV y CLAR para la evaluación de % disuelto.	60

## INDICE DE ABREVIATURAS

UV	Ultravioleta.
USP	United States Pharmacopeia.
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución.
NF	National Formulary.
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
rpm	Revoluciones por minuto.
SNC	Sistema Nervioso Central.
$C_{m\acute{a}x}$	Concentración plasmática máxima.
$t_{m\acute{a}x}$	Tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima.
ABC	Area bajo la curva.
RA	Reactivo analítico.
C.V.	Coficiente de variación.
$\alpha$	Nivel de significación.
TMD	Tiempo medio de disolución.
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media.
D.E.R	Desviación estándar relativa.
ANDEVA	Análisis de varianza.
DMS	Mínima diferencia significativa.

## INTRODUCCION

La epilepsia es un síndrome caracterizado por bruscas alteraciones pasajeras de la función cerebral que producen síntomas motrices, sensitivos, autonómicos o psíquicos, frecuentemente acompañados de pérdida de conocimiento. Esta enfermedad es considerada como el segundo transtorno neurológico más común después de la embolia cerebral en México y Estados Unidos.

En México existen alrededor de 800 000 personas que sufren crisis epilépticas, y se calcula que cada año aparecen 30 000 nuevos casos, lo cual significa que ésta es una de las alteraciones neurológicas más importantes en nuestro país, y por lo tanto debe ser considerado como un problema de salud pública.

Dado que la Fenitoína es uno de los productos más utilizados en el tratamiento de la epilepsia, y que existe tanto un método cromatográfico como uno espectrofotométrico (UV) para cuantificar Fenitoína en los estudios de disolución, se procedió a establecer si existe diferencia en los perfiles de disolución al analizar las muestras cuando se emplean diferentes métodos analíticos para la cuantificación de la cantidad disuelta, de productos que contuvieran Fenitoína Sódica como único principio activo ya que la diferencia entre usar un método u otro, radica principalmente en costo y tiempo del análisis.

Para el estudio se emplearon productos del mercado nacional provenientes de cinco fabricantes, y cuya forma farmacéutica fué cápsulas y tabletas, analizando dos lotes de cada fabricante, esto fué debido a que se deseaba conocer el comportamiento de disolución de todas las formas farmacéuticas sólidas producidas en México, los cuales fueron obtenidos del Sector Salud, Industria Farmacéutica y otros adquiridos en diferentes farmacias.

## I GENERALIDADES

## 1.1 DISOLUCION

Hasta hace 40 años se pensaba que a menos que una forma de dosificación oral se desintegrara en pequeños agregados, no podría absorberse adecuadamente en el organismo, por lo que la prueba de desintegración, fue oficial en diferentes países con el fin de establecer estándares mínimos de calidad. sin embargo, a fines de los 60's se demostró que la disolución es más importante que la desintegración de la forma farmacéutica y que este proceso es un indicador más confiable de la disponibilidad del fármaco en el organismo, por lo que en la actualidad esta prueba ha sustituido a la de desintegración.

La prueba de disolución es una prueba física en la cual se mide la capacidad que tiene tanto el fármaco puro, como el que esta contenido en una forma farmacéutica sólida, para disolverse en un medio determinado bajo condiciones experimentales controladas. (11,27)

## 1.2 IMPORTANCIA

A principio de los años 60's los problemas de biodisponibilidad de fármacos fueron considerados con más atención por la industria farmacéutica y agencias regulatorias. (16)

En los últimos años, la cinética de disolución de sustancias sólidas ha suscitado gran atención, especialmente por su aplicación al estudio de productos farmacéuticos, relacionando este proceso con la biodisponibilidad del fármaco.

Ha existido enorme interés por conocer los factores de los cuales depende el proceso de disolución, así como la correlación de los resultados de estas experiencias con parámetros in vivo, con el objeto de obtener datos precisos que puedan ser utilizados en el control de calidad en la industria farmacéutica y asegurar la biodisponibilidad del fármaco en el lugar de absorción.

Varios investigadores han reafirmado el concepto de que el proceso de absorción de fármacos a nivel gastrointestinal está controlado por la velocidad con que estos se disuelven en los medios fisiológicos. (2)

Con el paso de los años la prueba de disolución se ha convertido en una prueba importante, no solo empleada como una herramienta de control de calidad, sino también como un parámetro importante durante el desarrollo de formas farmacéuticas sólidas, así como también para conocer la variabilidad entre productos de diferentes fabricantes.

Existen varios métodos para determinar la velocidad de disolución, los más utilizados son los establecidos por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP XXII), National Formulary (NF) y FEUM son los métodos de canastillas y paletas (Método I y II respectivamente). Las monografías de cada producto farmacéutico describen el medio de disolución, la velocidad de agitación y el porcentaje de fármaco que deberá disolverse a un tiempo determinado, estas condiciones están determinadas en base a las propiedades intrínsecas del fármaco y a su comportamiento de disolución. La lista de fármacos que requieren la prueba de disolución de acuerdo a la USP, NF y FEUM cada vez es más grande considerando que la prueba puede proporcionar información acerca de la biodisponibilidad del fármaco. (16)

El equipo que se utiliza debe calibrarse por lo menos cada 6 meses para que la prueba sea reproducible y esta calibración se realiza con estándares de disolución denominadas tabletas calibradoras siendo las más utilizadas las de prednisona (desintegrantes) y de ácido salicílico (no desintegrantes). (16)

### **1.3 TEORIAS DE DISOLUCION**

La primera referencia de disolución es probablemente un artículo de Noyes y Whitney de 1897(29), titulado "La velocidad de disolución de sustancias sólidas en su propia solución". Estos autores fueron los primeros en estudiar cuantitativamente el proceso de disolución, basándose en la ley de Fick.

Los autores sugerían que la velocidad de disolución de las sustancias sólidas está determinada por la velocidad de difusión de una capa muy delgada de solución saturada que se forma instantáneamente alrededor de la partícula sólida.



Noyes y Whitney desarrollaron una relación matemática que correlaciona la velocidad de disolución con el gradiente de solubilidad del sólido. (27,29)

$$dc/dt = K (C_s - C)$$

Donde:

- dc/dt = velocidad de disolución del fármaco
- K = constante
- C<sub>s</sub> = concentración de saturación
- C = concentración al tiempo t

Pocos años después Brunner y Tolloczko mostraron que la constante de proporcionalidad, K, dependía de varios factores entre los que se encuentran, el área superficial del sólido, intensidad de agitación o velocidad de flujo que pasa a través del soluto, temperatura, estructura de la superficie y sistema de experimentación. (30)

Nerst y Brunner generalizaron la Ley de Noyes-Whitney incluyendo el proceso de disolución dentro de las reacciones heterogéneas y postularon que la velocidad del proceso de difusión que la acompaña, esto incluye el concepto de que el equilibrio soluto-solución es instantáneo comparado con la velocidad de difusión. En general Nerst y Brunner hacen un análisis profundo del modelo de difusión en película, cuando se trata de un sólido policristalino en un solvente puro y tratan de obtener el valor del espesor de la capa límite. (9,29)

La teoría de difusión de Nerst y Brunner ha sido considerada aceptable para explicar el proceso de disolución, así como la existencia de la capa de difusión que aunque no está bien definida, la hipótesis de su existencia permite la correlación entre los resultados experimentales y las propiedades físicas de las sustancias sólidas que se disuelven en un líquido no reactivo. (9)

Las teorías antes enunciadas suponen, en forma implícita, que no existe movimiento del fluido adyacente a la superficie sólida. Sin embargo, en la práctica, la disolución se realiza conforme a un régimen más o menos turbulento, por lo que estas teorías se apartan de la realidad.

Danckwerts, modificó las teorías anteriores, al suponer que el tiempo de exposición de la superficie sólida al líquido no es constante y que la capa de difusión alrededor de la partícula no es estática, sino que al existir una turbulencia en la interfase, la superficie líquida de la misma está siendo continuamente reemplazada por nuevo líquido.

Esta teoría, llamada de la "penetración" o "renovación de superficie" supone la existencia de paquetes macroscópicos de disolvente que se desplazan hacia la superficie del sólido y seguidamente, por difusión, cada paquete absorbe soluto y posteriormente es reemplazado por paquetes nuevos de disolvente, generándose así un ciclo de disolución continuo. (9,29)

Otra interpretación del fenómeno de disolución es el modelo desarrollado por Higuchi, en el cual toma en consideración la alta energía de activación necesaria para el transporte interfacial, esto determina que la difusión a través de la interfase es mucho más lenta que la que se realiza a través de la capa límite o capa de Nerst. De este modo, la reacción en la superficie del sólido no es instantánea, pues estaría obstaculizada por la existencia de una barrera interfacial. (9,29)

En 1931, Hixson y Crowell dedujeron una expresión conocida con el nombre de Ley de la "raíz cúbica", en la cual expresan la velocidad de disolución de un sólido en un líquido en función del área superficial y la concentración. (9)

Al aplicar la ley de Hixson y Crowell se considera que la forma de la partícula es esférica y que esta forma se conserva durante todo el tiempo que dura el proceso de disolución. Además debe tenerse en cuenta que éste tiene lugar desde la superficie del sólido, siendo la turbulencia o agitación alrededor de la partícula esencialmente igual en toda la superficie, no existiendo, en ningún momento, puntos de estaticidad en el líquido disolvente. Esta ley no es aplicable cuando no existe agitación en el sistema. (9)

## 1.4 PRUEBA DE DISOLUCION

Uno de los métodos oficiales de disolución marcados tanto por la USP XXII, como por la FEUM 5ª ed, es el método de canastillas, denominado método 1 y del cual se dan detalles a continuación.

### Método 1. Método de Canastillas

En este método se usa un vaso de vidrio o de otro material inerte cuya capacidad es de 1000 ml, de paredes lisas y fondo redondo con una tapa que debe mantenerse ajustada para retardar la evaporación y que permita la inserción de un termómetro, así como la toma de muestra. El vaso firmemente ajustado debe estar parcialmente sumergido en un baño de agua que tenga un ligero movimiento constante y que mantenga la temperatura del medio de disolución a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Es conveniente que el aparato permita la observación de la muestra. Consta de una canastilla en la cual se coloca la muestra cuyas paredes y fondo están constituidos por una malla de acero inoxidable de 0.12 mm de abertura, por su parte superior está unida a un vástago de acero inoxidable conectado a un motor que puede tener una velocidad constante entre 25 y 200 rpm con una variación de  $\pm 4\%$ , el cual debe girar suavemente y sin bamboleo. La canastilla se sumerge en el centro del medio de disolución hasta una profundidad tal que quede situada a 2.5 cm del fondo del vaso. (9,11)

Es importante que al inicio de la prueba, tanto la canastilla como el vástago que la sostiene, se encuentren perfectamente secos, ya que se debe evitar que la muestra entre en contacto con la humedad hasta el momento de realizar el ensayo. (11)

El ensayo de disolución aplicado a una forma farmacéutica sólida mide la cantidad de fármaco disuelto en un volumen de líquido a un tiempo determinado o a varios tiempos (perfil de disolución) según el tipo de información que se desea obtener. La mayoría de las monografías incluidas en la USP y FEUM sólo exigen que un cierto porcentaje del fármaco se disuelva a un tiempo determinado. Sin embargo la determinación de la cantidad disuelta a varios tiempos proporciona mayor información acerca de la velocidad de disolución la cantidad máxima que puede disolverse, el tiempo de latencia de la forma farmacéutica o los cambios de la cinética en el transcurso del tiempo. En este método la Farmacopea establece que la muestra debe ser sacada del espacio existente entre la superficie del medio de disolución y el borde superior de la canastilla y a no menos de 1 cm de la pared del vaso. (9,37)

## 1.6 FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN

La velocidad de disolución de un sólido se ve afectada por la influencia de un gran número de factores, los cuales pueden ser divididos en diferentes clases, siendo los más comunes los enunciados a continuación. (2,15)

Factores que afectan la velocidad de disolución de cápsulas y tabletas.

### I. Factores durante la prueba de disolución

1. Velocidad de agitación
2. Temperatura
3. Viscosidad
4. pH del medio
5. Composición del medio
6. Volumen de medio
7. Desgasificación del medio

### II. Factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco

1. Polimorfismo
2. Estado amorfo y solvatación
3. Naturaleza química
4. Tamaño de partícula
5. Porosidad
6. Pureza

### III. Factores relacionados con el método de manufactura

#### A. Tabletetas

1. Cantidad y tipo de diluyente
2. Manufactura empleada para tabletear
3. Tamaño de granulo
4. Cantidad y tipo de desintegrante y método de incorporación
5. Fuerza de compresión
6. Cantidad y tipo de lubricantes

#### B. Cápsulas

1. Cantidad y tipo de diluyente
2. Tamaño de partícula (granulo ó polvo)
3. Cantidad y tipo de lubricante y método de incorporación
4. Composición y tipo de cápsula
5. Presión aplicada para encapsular

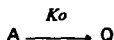
## 1.6 CINÉTICA DE DISOLUCIÓN

Aun cuando los ensayos de disolución se encuentran ampliamente difundidos, muy pocos investigadores han formulado los principios cinéticos correspondientes. Las condiciones empleadas en estos ensayos originan cinéticas diferentes, según sea la técnica empleada. Por este motivo, analizaremos cada uno de estos mecanismos cinéticos con el objeto de establecer algunas constantes y sus dimensiones. (9)

### A) CINÉTICA DE DISOLUCIÓN DE ORDEN CERO

Este orden de reacción se puede observar en los casos en los que se disuelve una pequeña cantidad de producto sólido en un gran volumen de disolvente. En un sistema así, la cantidad de sólido es tan pequeña con relación al volumen total de líquido de disolución, que la influencia de la cantidad que se disuelve es despreciable. También es posible observar este tipo de cinética en productos que se disuelven muy lentamente.

Si nos basamos en el esquema:



en el cual A representa la cantidad de fármaco agregado inicialmente al medio de disolución, Q es la cantidad del fármaco en solución y  $K_0$  la constante de velocidad de disolución de orden cero.

En este modelo la velocidad con que el sólido se disuelve en el disolvente es constante con el tiempo e independiente de la concentración del soluto. (9)

La cantidad total del fármaco disuelto a tiempo infinito es  $Q_\infty$  y corresponde teóricamente, a la cantidad A agregada inicialmente al medio de disolución. Sin embargo, no siempre  $Q_\infty$  es igual a A, ya que cuando se trata de una forma farmacéutica pueden ocurrir dos situaciones:

- ◆ El principio activo no es cedido completamente a la solución por existir cierto grado de retención por parte de los excipientes
- ◆ Sí bien se conoce la cantidad teórica que lleva la forma farmacéutica, esta puede presentar variaciones propias de la manufactura u otras variables.

A pesar de que estas fluctuaciones suelen ser de pequeña importancia, en la expresión de los resultados pueden ser muy importantes, sobre todo si se requiere determinar con precisión los parámetros de disolución. Conviene tener en cuenta esta consideración al expresar los resultados de disolución.

En los estudios de cinética de disolución de formas farmacéuticas sólidas, se plantea con mucha frecuencia que el principio activo contenido no se disuelva completamente en el medio de disolución. Una forma de resolver este inconveniente es tomar como  $Q_{\infty}$  como la cantidad máxima del fármaco que es capaz de disolverse en el líquido de disolución. (8)

Si se considera que  $Q_{\infty}$  es la cantidad máxima de sólido disuelto a tiempo infinito,  $A_0$  es la cantidad inicial de soluto y  $Q_t$  la cantidad disuelta a un determinado tiempo entonces:

$$A_0 = Q_{\infty} \text{ y } A = Q_{\infty} - Q_t$$

La ecuación que describe la cinética de disolución de orden cero es:

$$A = A_0 - K_0 t$$

Los resultados se grafican como porcentaje del fármaco no disuelto ( $A$ ) y se representan en función del tiempo ( $t$ ), en donde a partir de la pendiente negativa se obtiene el valor de la constante de disolución de orden cero cuyas dimensiones son masa / tiempo.

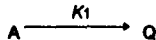
Además de  $K_0$ , otro parámetro importante es el tiempo medio de disolución ( $t_{1/2}$ ), que indica el tiempo al cual se ha disuelto el 50 % del fármaco, calculandose mediante la ecuación:

$$t_{1/2} = \frac{A}{2 K_0}$$

## B) CINÉTICA DE DISOLUCIÓN DE PRIMER ORDEN

En los procesos que siguen una cinética de disolución de primer orden, a medida que el fármaco en estado sólido va disminuyendo, la solución se va enriqueciendo con el soluto. Al ir aumentando la concentración del fármaco disuelto, el proceso aparece como de primer orden, en el cual la velocidad de disolución es función de la concentración del fármaco disuelto. Por lo general las curvas de disolución de productos que siguen estas cinéticas son de tipo sigmoideo. (9)

Basandose en el esquema:



en donde A es el fármaco agregado al medio de disolución o la cantidad de fármaco incluido en la forma farmacéutica bajo estudio; Q es la cantidad de fármaco que aparece en el líquido de disolución en forma de solución, y  $K_1$  es la constante de velocidad de disolución de primer orden. (e)

La ecuación que define la cinética de disolución de primer orden es :

$$A = A_0 e^{-K_1 t}$$

donde A es la cantidad de fármaco no disuelto a tiempo  $t$  y  $A_0$  es la cantidad del fármaco agregado inicialmente. Si tomamos en cuenta que la solución del fármaco que va quedando sin disolver al tiempo  $t$ , se tiene :

$$A = Q_\infty - Q_t$$

Para obtener los parámetros de disolución de primer orden, es necesario linearizar la ecuación, obteniéndose :

$$\ln A = A_0 - k_1 t$$

Entonces al graficar la cantidad remanente ( $\ln A$ ) contra el tiempo, se obtiene una recta cuya pendiente es igual a  $-k_1$ , la constante de velocidad de primer orden tiene como dimensiones  $1/\text{tiempo}$ . El tiempo de vida media se obtiene mediante la ecuación:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_d}$$

## 2.0 CARACTERÍSTICAS DEL PRINCIPIO ACTIVO

Dentro de cualquier trabajo experimental se considera importante conocer las propiedades físicas y químicas de la sustancia de interés, por lo que a continuación se mencionan algunas características del fármaco empleado para el estudio.

*Nombre común:* Fenitoína, Difenilhidantoína (21)

*Nombre químico:* 5,5-difenilimidazolidina-2,4-diona  
5,5-difenil-2,4-imidazolidindiona (21)

*Formula condensada:*  $C_{15}H_{12}N_2NaO_2$  (12)

*Estructura química:* (12)

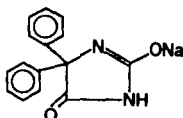


Figura 1. Estructura de Fenitoína Sódica

*Peso molecular:* 274.3 g/mol (12)

*Descripción:* Polvo cristalino, blanco, inodoro, ligeramente higroscópico, en exposición al aire absorbe dióxido de carbono. (11,21)

*Propiedades ácido-base:* Ácido débil con un  $pK_a \approx 9$

*Máximo de absorción en la región ultravioleta:* a 258 nm (12)

*Rango de fusión:* 295-298 °C

*Solubilidad*

Soluble en agua y alcohol, prácticamente insoluble en cloroformo eter y cloruro de metileno (12,21,22)



## 2.1 PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

### a) Actividad farmacológica:

La fenitoína es un agente primario para todos los tipos de epilepsia excepto las crisis de ausencia.

La fenitoína fue sintetizada en 1908 por Biltz, pero su actividad anticonvulsivante no fue descubierta hasta 1938 por Sobotka y después por Merritt y Putman (20) a diferencia del descubrimiento accidental previo de las propiedades anticonvulsivas del bromuro y el fenobarbital, la fenitoína fue el producto de una búsqueda entre derivados no sedantes relacionados estructuralmente con el fenobarbital de agentes capaces de suprimir las convulsiones. (20,34)

Dentro del grupo de las Hidantoinas, la fenitoína es uno de los fármacos anticonvulsivos más usados, aunque está asociado con una variedad de efectos tóxicos y es considerado como teratogénico. Debido a esto Kwon Chul-Hoon y col.(20) realizaron un estudio en el cual obtuvieron productos derivados de 2-hidantoinas tratando de encontrar un fármaco con menor toxicidad, encontrando que la relación estructura actividad de los productos sintetizados (2-iminohidantoinas) era totalmente diferente a la de 2-hidantoinas, ya que los productos obtenidos no presentaban actividad anticonvulsiva. (20)

La fenitoína fue introducida para el tratamiento sintomático de la epilepsia en 1938. El descubrimiento de la fenitoína constituyó un gran avance. Dado que este agente no es un sedante en las dosis comunes, permitió establecer que los antiepilépticos no necesitan reducir la conciencia y estimuló la búsqueda de agentes con acción anticonvulsiva selectiva. (14,32)

### b) Absorción

La absorción de fenitoína después de su ingestión oral es lenta; a veces variable y de manera incompleta en el tracto gastrointestinal, es insoluble en el pH ácido del estómago, la mayor parte es absorbida en el intestino delgado. Se han detectado diferencias significativas en la biodisponibilidad de los preparados farmacéuticos orales. La concentración máxima después de una sola dosis puede producirse en el plasma entre las 3 y las 12 horas.

Una vez absorbida, la fenitoína se distribuye rápidamente en todos los tejidos y las concentraciones en el plasma y en el encéfalo se igualan a los pocos minutos de la inyección intravenosa. (22,34)

c) Metabolismo y Eliminación

La fenitoína es metabolizada en el hígado a metabolitos inactivos, principalmente 5-(4-hidroxifenil)-5-fenilhidantoina. La velocidad de metabolismo que presenta, está sujeta a las características genéticas y es un proceso saturable, razón por la cual pequeños aumentos en la dosis pueden producir grandes aumentos en la concentración sérica.

Menos del 5% de fenitoína se excreta inalterada por la orina, el resto se metaboliza y se excreta por la orina en gran parte como glucurónido. (31,34)

d) Distribución

La fenitoína se distribuye ampliamente en el organismo y se une en gran proporción a las proteínas plasmáticas, aproximadamente un 90%. El nivel sanguíneo máximo se alcanza aproximadamente 8 a 12 horas después de su administración. Existe un alto grado de variabilidad de la vida media, aunque el valor promedio es cerca de 22 horas, así mismo se encuentra gran variabilidad en los niveles sanguíneos individuales. Con una dosis estándar (12 mg/Kg de peso) la concentración sérica en el estado estacionario se alcanza hasta 4 a 12 semanas después de haber iniciado el tratamiento.

La evaluación de las concentraciones plasmáticas puede ser un auxiliar en la evaluación del control terapéutico. El rango terapéutico de fenitoína en plasma es de 10 a 20  $\mu\text{g/ml}$  (48 a 80  $\mu\text{mol/ml}$ ), algunos pacientes están controlados a concentraciones fuera de este rango debido a la diferencia que hay en la unión a proteínas, generalmente se usan concentraciones mayores. En algunos casos concentraciones arriba de 20  $\mu\text{g/ml}$  se asocian a signos progresivos de toxicidad. (22,34)

e) Toxicidad

Los efectos tóxicos dependen de la dosis así como de la vía de administración. Cuando los niveles de fenitoína son mayores a 40  $\mu\text{g/ml}$  usando una vía de administración oral, se producen signos tóxicos como estupor,

exacerbación de la crisis, nistagmo, trastornos del movimiento, ataxia e inclusive coma. Cuando el fármaco se administra por vía intravenosa en forma demasiado rápida, pueden producirse signos tóxicos como arritmias cardíacas y depresión del sistema nervioso central (SNC). Otros síntomas de toxicidad que se pueden presentar son, cambios en la conducta como depresión, alucinaciones, estados confusionales y aumento de las crisis convulsivas, así como también ataxia, temblor, vértigo, diplopía y midriasis. (22, 31,34)

#### f) Disolución

La fenitoína es un fármaco antiepiléptico que presenta un estrecho rango terapéutico y una cinética dependiente de la dosis, por lo que puede ser clasificado como un fármaco con problemas de biodisponibilidad, por tal motivo Vinod P. Shah y col. (39) realizaron un estudio de correlación in vitro-in vivo. Los autores encontraron correlación entre  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $t_{m\acute{a}x}$  y % disuelto a los 30 y 60 minutos de manera que los productos con baja disolución presentan una absorción mas lenta, por lo que clasificaron los productos en disolución lenta y rápida los cuales no pueden ser intercambiables.

El estudio in vitro se realizo evaluando por el método de canastillas a 50 rpm usando agua como medio de disolución. Los resultados demostraron que la cantidad disuelta variaba entre 18 y 100 % a los 30 minutos y 56 y 100 % a los 60 minutos, por lo que se clasificaron en productos de disolución lenta y rápida.

Debido al estrecho rango terapéutico y metabolismo de dosis dependiente, cambios pequeños en la velocidad de absorción pueden causar un cambio significativo en las concentraciones séricas dando como resultado serias consecuencias clínicas en algunos pacientes. (39)

En el mismo año estos autores realizaron otro estudio de correlación in vitro-in vivo administrando una solución de 100 mg de fenitoína sódica y cápsulas de disolución rápida y cápsulas de disolución lenta empleando formulaciones de 100 mg en voluntarios sanos, utilizando un diseño de cuadrado latino. Así mismo se realizo un estudio de dosis multiples en pacientes epilépticos a los cuales se les administraron los mismos productos que a los voluntarios sanos. (40)

El estudio de disolución se realizó usando el método de canastillas a 50 rpm y agua como medio de disolución; el estudio in vivo se llevo a cabo en 15 voluntarios, empleando seis productos diferentes, se tomaron muestras de sangre y saliva las cuales fueron analizadas por cromatografía de gases. Se encontro una buena correlación de los datos entre el porcentaje disuelto,  $C_{max}$ , ABC y  $t_{max}$ . (40)

Estos autores encontraron que la disolución es un factor muy importante, ya que contribuye a establecer la velocidad de absorción y biodisponibilidad del fármaco; así mismo se encontro que los productos estudiados no son equivalentes debido a las diferencias en la velocidad de liberación y absorción del fármaco, ya que cuando los pacientes están habituados a tomar productos con lenta disolución, un cambio a productos de rápida disolución puede elevar los niveles séricos del fármaco y causar toxicidad, y por el contrario, cuando el paciente esta habituado a tomar productos de rápida disolución, al administrarle productos de lenta disolución los niveles terapéuticos pueden no ser alcanzados y presentar crisis convulsivas. En base a lo anterior los autores establecieron que los productos, no pueden ser intercambiados ya que no tienen equivalencia terapéutica. (40)

Por otra parte Yau Martin y col (43), realizaron un estudio similar al de Shah y col, evaluando la correlación in vivo-in vitro a través de un simulador de absorción y el estudio in vitro con un equipo de disolución, se estudiaron 11 lotes de fenitoína cápsulas (100 mg). Para el estudio de absorción se utilizo una superficie de contacto artificial de tipo lipídica con área de 40 cm<sup>2</sup> para la fase gástrica y 80 cm<sup>2</sup> para la fase intestinal. (43)

Las muestras se analizaron por espectrofotometría después de cierto tratamiento de extracción con cloroformo, ya que se observo que existe interferencia por los componentes de la cápsula. Al realizar la disolución se encontro que la mayoría de los productos presentaba disolución rápida, pero algunos tenían disolución incompleta después de 45 minutos, presentando a su vez poca absorción. (43)

Al concluir el estudio se encontró que la prueba de disolución además de predecir la biodisponibilidad del fármaco, puede servir para determinar el regimen de dosificación, esto es dependiendo de si el producto presenta rápida o lenta disolución. Los autores recomiendan que las formulaciones de rápida disolución se administren tres veces al día, en tanto que las de lenta disolución una vez al día. (43)

**g) Dosificación**

**Adultos:** 100 mg 3 veces al día después de la comida, ajustando a la respuesta individual (21,22)

**Niños:** De 4 a 7 mg/Kg/día. En niños menores de 6 años no pasar de 300 mg/día (22)

**h) Formas Farmacéuticas**

La fenitoína sódica se encuentra como monofármaco en las siguientes formas farmacéuticas. (31)

Tabletas	30 y 100 mg
Cápsulas	100 mg
Suspensión	750 mg/100 ml
Inyectable	250 mg

## 2.2 GENERALIDADES DE CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR)

Se considera importante conocer los aspectos generales del método analítico que se desea emplear para un estudio, por lo cual a continuación se dan algunos aspectos generales de la cromatografía.

### Clasificación de la Cromatografía

La cromatografía como técnica de separación, puede ser clasificada dependiendo de la naturaleza de la fase móvil en:

- Cromatografía de gases
- Cromatografía de líquidos

A su vez, al tomar en consideración la naturaleza de la fase estacionaria se subdividen en técnicas específicas que poseen diferencias en su mecanismo de separación para lograr aislar, con la misma eficiencia los diversos componentes químicos que posee alguna mezcla éstas se muestran en la Figura 2. (11,35)

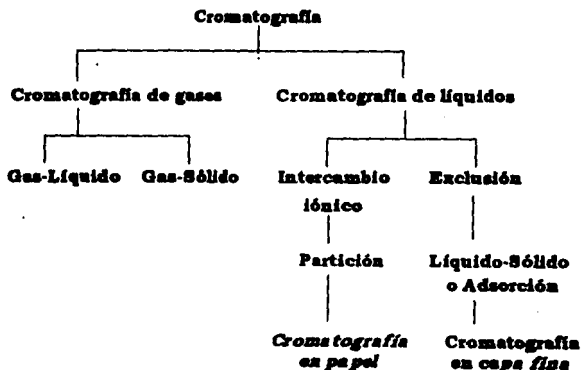
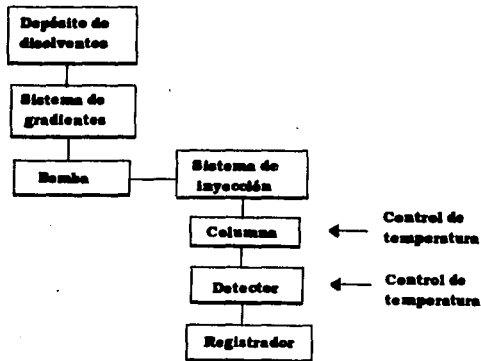


Figura 2. Clasificación de los métodos cromatográficos.

**Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución ( CLAR )**

La cromatografía de líquidos de alta resolución ha tomado auge en los últimos años, lo que ha permitido un alto desarrollo dentro de las diferentes industrias como son la farmacéutica, alimenticia, química, plásticos, petroquímica e investigación entre otras áreas. Este método es denominado de esta manera, debido a las eficiencias extremadamente altas que se obtienen (unos 50,000 platos por metro), además de las altas presiones que se utilizan (1,000-3,000 psi). En la CLAR, el diámetro de partícula de la fase estacionaria es típicamente de 10um o menos, y como resultado de ello las columnas se empaquetan más compactamente y desarrollan altas retropresiones que necesitan del bombeo de la fase móvil a través de la columna. (27)

En la determinación analítica mediante este tipo de cromatografía se han desarrollado una serie de instrumentos que se consideran como típicos para el uso de este método, en la Figura 3 se muestran los componentes de dicho equipo. (42)



**Figura 3. Componentes básicos de un sistema de cromatografía de líquidos de alta resolución**

Generalmente se emplea espectroscopía UV ó cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) para realizar el análisis de muestras obtenidas de pruebas de disolución, ya que es un método de gran utilidad que tiene la capacidad de separar el principio activo de los excipientes e impurezas además de cuantificar cantidades muy pequeñas, por lo tanto CLAR es una opción excelente para el análisis de muestras de disolución ya que generalmente son mezclas complejas de multicomponentes.

## **2.3 GENERALIDADES DE ESPECTROFOTOMETRIA UV**

Todos los átomos y moléculas son capaces de absorber energía, de acuerdo con ciertas limitaciones, las cuales dependen de la estructura de la sustancia. La energía se puede proporcionar en forma de radiación electromagnética (luz). El tipo y cantidad de radiación absorbida por una molécula está sujeta así mismo al número de moléculas que interaccionan con la radiación. El estudio de estas dependencias se conoce como espectroscopía de absorción. (19)

Se denomina espectroscopio o espectrómetro a todo instrumento utilizado en la medida de un espectro. Si la luz que ha atravesado la muestra se detecta con una película o placa fotográfica, se trata de un espectrógrafo; si la intensidad de luz se mide con una célula fotoeléctrica, el instrumento es un espectrofotómetro. (19)

La espectroscopía de absorción es, indudablemente, una de las técnicas analíticas más interesantes de las descubiertas a la fecha. A pesar de los nuevos avances en química analítica probablemente permanecerá como un instrumento útil, debido a sus varias y preponderantes ventajas en la solución de muchos problemas. Estas ventajas incluyen rapidez, sencillez, especificidad y sensibilidad, debido a esto, un gran número de métodos analíticos para cuantificar el principio activo en pruebas de disolución, son realizados por esta técnica.

La espectroscopía es probablemente el método más económico y rápido para realizar el análisis de productos farmacéuticos, sin embargo la determinación simultánea de ingredientes activos no es adecuada, el principal problema es la interferencia de excipientes en la región de absorción, tales como colorantes u otros componentes.



Dependiendo de la longitud de onda de la radiación empleada, nos ubicaremos en una región específica del espectro electromagnético. (18)

Regiones	Intervalos de longitud de onda
Ultravioleta lejano	100-200 nm
Ultravioleta	200-400 nm
Visible	400-750 nm
Infrarrojo cercano	0.75 - 4 $\mu$ m
Infrarrojo	4 -25 $\mu$ m

Debido a que los métodos de análisis han ido evolucionando día con día, el espectrofotómetro de arreglo de diodos, ha sido sin duda un gran avance dentro de la espectroscopia, en la industria farmacéutica. Esto es de gran utilidad, ya que la mayoría de los análisis de muestras son mezclas multicomponentes. (19)

Recientemente se han desarrollado técnicas espectrofotométricas UV, tal como la determinación de sustancias por espectrofotometría con arreglo de diodos, este tipo de análisis tiene una gran importancia, ya que nos permite realizar el análisis cuantitativo usando múltiples longitudes de onda manejadas a través de computadoras, este instrumento nos permite determinar concentraciones de ingredientes activos en presencia de impurezas u otros componentes.

Su-ChinLo y col.(20) , realizaron un estudio de disolución usando un espectrofotómetro UV-Visible con arreglo de diodos, encontrando que dicho método tiene ciertas ventajas respecto a espectrofotometría UV y CLAR siendo las más importantes, la reducción en el tiempo necesario para el análisis, lo cual incrementa la productividad en el laboratorio, así mismo este sistema disminuye el costo del análisis, debido a que no es necesario consumir grandes cantidades de solvente, columnas ó sistemas automuestreadores como en los métodos cromatográficos. (20)

## 2.4 VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

La validación de un método analítico puede definirse como el proceso por el cual queda establecido por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa, en este caso, en términos de parámetros analíticos. (28)

Los parámetros a valorar de acuerdo a la guía de Normas de Validación de Métodos Analíticos, van a depender de la aplicación del método, evaluándose generalmente, los siguientes parámetros:

### a) **Linealidad** (28)

La linealidad de un sistema o método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado.

#### *Linealidad del sistema*

Se determina, construyendo una curva de calibración utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo análisis cuando menos por duplicado para cada dilución.

El intervalo de concentraciones a analizar dependerá del propósito del método, para control de calidad y seguimiento de estabilidad de un fármaco en una forma farmacéutica, deberá estar incluida la concentración seleccionada como 100 %.

Para evaluar este parámetro se considera el coeficiente de correlación ( $r$ ), coeficiente de determinación ( $r^2$ ), la pendiente ( $b$ ) y la ordenada al origen ( $a$ ) y el coeficiente de variación.

#### *Linealidad del método*

Se determina a partir de placebos adicionados de cuando menos 3 diferentes cantidades de sustancia de interés (placebos cargados), cada uno de manera independiente, haciendo los análisis por triplicado, incluyendo la correspondiente al 100 %, realizándose el análisis bajo las mismas condiciones de operación y por el mismo analista. Este parámetro se evalúa de igual manera que la linealidad del sistema.

**b) Exactitud (28)**

La exactitud de un método analítico es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

Se determina cuando menos a 6 placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés para obtener la concentración del 100%, utilizando el método propuesto. Realizando el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista. (Exactitud y Repetibilidad al 100%)

Para evaluar la exactitud se considera el coeficiente de variación (C.V.) y el estadígrafo de contraste  $t$  de student, usando  $\alpha=0.05$ .

**c) Precisión (28)**

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.

• **Repetibilidad**. Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, laboratorio, etc.).

Se evalúa mediante el coeficiente de variación (C.V.) y el estadígrafo de contraste ji cuadrada ( $\chi^2$ ), usando  $\alpha=0.05$ .

• **Reproducibilidad**. Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes (diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/o diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos, etc.).

Se evalúa mediante un análisis de varianza

**Precisión del sistema (28)**

Se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100 % establecido en la linealidad del sistema.

**Precisión (Reproducibilidad)**

Se determina de una muestra homogénea del producto cercana al 100 % de la concentración teórica, analizada cuando menos por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

**d) Especificidad. (28)**

Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

Con el método propuesto:

1. Analizar placebos del producto.
2. Identificar la(s) respuesta(s), y si procede, de los excipientes y/o de otras de las sustancias presentes.

## II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La prueba de disolución es una herramienta muy útil para determinar la liberación del fármaco a partir de su forma farmacéutica, así mismo sirve para establecer la formulación que permite mayor disponibilidad, discernir lotes defectuosos de lotes buenos, asegurar la calidad de medicamentos en farmacias de hospitales, o en los análisis de control de laboratorio.

Para realizar este tipo de estudios se requiere de metodología analítica que permita cuantificar al fármaco en el medio de disolución propuesto, el cuál debe ser preciso, exacto y lineal, de manera que se cuantifique únicamente el fármaco liberado y no los excipientes contenidos en la forma farmacéutica.

Para el caso específico de Fenitoína la prueba oficial de disolución que marca la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM 5ª Ed.) y la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (USP XXII) es idéntica en cuanto al medio y condiciones de disolución utilizadas, sin embargo difieren en el método de cuantificación del principio activo en el medio de disolución, por una parte la USP utiliza Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución y por otra la FEUM utiliza espectrofotometría ultravioleta.

La diferencia entre utilizar un método u otro se ve afectada por el costo y tiempo del análisis por lo que es importante establecer si los dos métodos de cuantificación producen los mismos resultados en la prueba de disolución del fármaco.

### **III OBJETIVO**

---

## **OBJETIVO**

**Establecer las diferencias analíticas entre CLAR y Espectrofotometría UV en la evaluación de perfiles de disolución en tabletas y cápsulas de Fenitoína Sódica en formulaciones de 100 mg producidas en México y así determinar si existe diferencia significativa entre métodos analíticos.**



#### **IV HIPOTESIS**

---

## HIPOTESIS

No existe diferencia significativa en el perfil de disolución de los productos conteniendo Fenitoína, al cuantificar el fármaco por espectrofotometría ultravioleta ó por cromatografía de líquidos de alta resolución.

## **V PARTE EXPERIMENTAL**

---

## 5.1 MATERIAL Y EQUIPO

### Reactivos

- Metanol HPLC	Mallinckrodt
- Etanol absoluto	Mallinckrodt
- Acido clorhídrico	J.T. Baker
- Metanol RA	Mallinckrodt
- Hidróxido de sodio	Mallinckrodt
- Piridina	J.T. Baker
- Sulfato de cobre pentahidratado	Química JVC
- Cloroformo	J.T. Baker
- Sulfato de sodio anhidro	J.T. Baker
- Fenitofina Sódica	Pake Davis. Lote:763381 Contenido:99.84%

### Equipo

- Cromatógrafo de líquidos BECKMAN SYSTEM GOLD
  - Inyector automático Mod. 507
  - Detector Mod. 166
  - Sistema de bombeo Mod. 116
  - Columna SPHERISORB 5 $\mu$ , ODS, 25 cm x 4.6 mm
- Balanza Sartorius Analytic Mod. 2E1106
- Balanza granataria OHAUS 2 Kg
- Disolutor Hanson Research SR6
- Espectrofotómetro BECKMAN DU-68
- Desintegrador ELECSA Mod. DSE 30
- Friabilizador ELECSA Mod. DSE 30
- Desionizador MILLIPORE
- Baño de ultrasonido METTLER ELECTRONICS
- Parrilla de calentamiento Thermolyne nuova II
- Centrifuga DYNAC Clay Adams
- Durometro Shleuniger Mod. 2E1106

## 6.2 SELECCION DE LOS MEDICAMENTOS

Se seleccionaron productos provenientes de cinco fabricantes, analizándose dos lotes de cada uno con el fin de obtener la variabilidad tanto inter como intra lote.

Durante el estudio, se evaluaron, productos nacionales conteniendo Fenitoína Sódica como único principio activo, cuyas formulaciones correspondían a 100 mg de principio activo.

Las formas farmacéuticas de los productos fueron: cápsulas y tabletas. Las claves asignadas a cada producto se muestran en la Tabla I.

Producto	Lote	Forma Farmacéutica
A	1	Cápsulas
	2	Cápsulas
B	1	Tabletas
	2	Tabletas
C	1	Tabletas
	2	Tabletas
D	1	Tabletas
	2	Tabletas
E	1	Tabletas
	2	Tabletas

Tabla I. Clave de los productos empleados en el estudio

### **5.3 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD**

Se realizaron las pruebas de control de calidad de los productos en estudio, debido a que estas son importantes para la interpretación de la prueba de disolución ya que si los productos no cumplen con las especificaciones de calidad, esto se ve reflejado en la disolución.

Las pruebas de control de calidad realizadas a cada lote, fueron las siguientes:

- Identidad
- Tiempo de desintegración
- Friabilidad
- Variación de peso
- Dureza
- Uniformidad de contenido
- Valoración del principio activo

En las secciones siguientes se incluyen los procedimientos seguidos, para la realización de cada prueba de control de calidad, así como sus especificaciones, éstas fueron tomadas de diversas fuentes, debido a que el presente trabajo fue parte de un convenio con otros laboratorios, en el cual se acordó emplear dichas fuentes de información.

#### **5.3.1 IDENTIDAD (7)**

##### **CAPSULAS**

###### **Ensayo A**

Tomar una cantidad de polvo, que contenga 0.5 g de Fenitoína Sódica, adicionar 10 ml de agua y filtrar. Adicionar al filtrado ácido clorhídrico 2 M. Se produce un precipitado blanco.

###### **Ensayo B**

Pesar 0.1 g del residuo obtenido en la prueba B, añadir 0.5 ml de hidróxido de sodio 1 M, 10 ml de solución al 10% w/v de piridina y 1 ml de sulfato de cobre al 1%. Se produce un precipitado azul.

##### **TABLETAS**

###### **Ensayo A**

Pesar una cantidad de polvo equivalente a 0.5 g de Fenitoína Sódica, adicionar 10 ml de agua y filtrar. Adicionar al filtrado ácido clorhídrico 2 M. Se produce un precipitado blanco

### 5.3.2 TIEMPO DE DESINTEGRACION (28)

El tiempo de desintegración se define como el tiempo necesario para que las tabletas se desintegren y quede sobre la malla del aparato de prueba un residuo en forma de masa suave, sin núcleo palpablemente duro.

#### TABLETAS

En cada uno de los 6 tubos depositar una tableta, colocar un disco y poner el aparato en movimiento, usando como líquido de inmersión agua destilada a  $37 \pm 1$  °C, a una frecuencia constante entre 28 y 32 ciclos por minuto. Cuando ha transcurrido el tiempo indicado elevar la canastilla para separarla del líquido de inmersión y observar las tabletas. El tiempo de desintegración no debe ser mayor de 15 min. (28).

#### CAPSULAS

Aplicar la prueba para tabletas omitiendo el uso de discos. En lugar de discos, colocar un tamiz de alambre removible (malla No. 10) en la parte superior de la canastilla. Observar las cápsulas cuando ha transcurrido el tiempo especificado. El tiempo de desintegración no debe ser mayor de 30 min. (28)

### 5.3.3 FRIABILIDAD (36)

Consiste en evaluar la capacidad que tienen las tabletas de resistir las fuerzas tangenciales sin perder parte de su composición por formación de polvos, despostillamiento en los bordes, rompimiento o laminado de su estructura.

El procedimiento para realizar esta prueba es el que se describe a continuación:

Desempolvar las tabletas con una brocha suave, determinar el peso exacto, colocar en el tambor y rotar esté 100 tiempos, desempolvar las tabletas usando una brocha y pesar las tabletas registrando el peso exacto. Calcular el % de peso perdido.

Para tabletas que pesan menos de 650 mg cada una, usar una muestra de 6.0 a 6.5 g. La pérdida de peso no debe ser mayor del 1%.

#### 5.3.4 VARIACION DE PESO (36)

Esta prueba nos indica los límites de variación permisibles en el peso de las unidades de dosificación, expresados en términos de una desviación con respecto al peso promedio de las tabletas.

##### **TABLETAS**

Pesar individualmente 20 unidades y determinar el peso promedio de éstas. El peso individual de 2 de las 20 unidades no debe estar fuera de los límites indicados, el cuál es de  $\pm 5\%$  del peso promedio.

##### **CAPSULAS**

Pesar una cápsula completa, abrir la cápsula y vaciar el polvo, pesar la cápsula vacía y sacar el peso del contenido por diferencia, repetir la operación para otras 19 unidades. Determinar el peso promedio de éstas. El peso individual de 2 de las 20 unidades no debe estar fuera de los límites indicados, el cuál es de  $\pm 10\%$  del peso promedio.

#### 5.3.5 DUREZA

Esta prueba permite conocer la resistencia que tienen las tabletas, al astillamiento, agrietamiento o ruptura.

Se realiza obteniendo el valor promedio de la determinación de dureza de no menos de 10 unidades, la cual debe estar dentro del límite de 4 a 10 Kg.

#### 5.3.6 UNIFORMIDAD DE CONTENIDO (11)

Se analizaron no menos de 10 unidades de acuerdo al siguiente método.

##### **Solución de referencia**

Preparar una solución de Fenitoína Sódica en etanol, que contenga 400  $\mu\text{g/ml}$ , añadir 2 ml de solución 1:100 de ácido clorhídrico por cada 100 ml de solución.

##### **Solución de la muestra problema (11)**

Pasar cuantitativamente el contenido de una cápsula ó tableta a un matraz volumétrico de 25 ml, aforar con etanol, mezclar, centrifugar una porción de la mezcla a 2000 rpm hasta que la solución sea clara, aproximadamente 5 minutos. Diluir 1 ml del líquido claro con etanol y adicionar 0.2 ml de ácido clorhídrico 1:100 para obtener la misma concentración de la solución de referencia.



### Procedimiento

Determinar la absorbancia de la solución de referencia y de la muestra, a una longitud de onda de 258 nm y usar como blanco de ajuste una solución de un volumen de solución 1:100 de ácido clorhídrico y 4 volúmenes de etanol.

Las especificaciones para esta prueba son las siguientes:

#### TABLETAS

La cantidad de ingrediente activo de cada una de las unidades determinadas debe estar dentro del rango de 85 a 115 % de la cantidad indicada en el marbete y la desviación estándar relativa debe ser menor o igual a 6%. (11)

#### CAPSULAS

La cantidad de ingrediente activo en no menos de 9 de las 10 unidades determinadas, queda dentro del rango de 85 a 115 % de la cantidad indicada en el marbete y la desviación estándar relativa de las 10 unidades es menor o igual a 6%. (11)

### 5.3.7 VALORACION DEL PRINCIPIO ACTIVO (37)

La valoración del principio activo se realizó de acuerdo al método mostrado en la Figura 4 el contenido de principio activo debe estar dentro de los límites de 93 a 107 % de acuerdo a lo indicado en el marbete.

Debido a que el método analítico empleado en esta prueba es por cromatografía de líquidos de alta resolución a continuación se muestran las condiciones de operación:

Cromatógrafo: BECKMAN SYSTEM GOLD  
Fase móvil: Metanol-Agua 55:45  
Columna: ODS 0.5  $\mu$ , 4.6 mm x 25 cm  
Velocidad de flujo: 1.5 ml/min  
Longitud de onda: 254 nm  
Vol. de inyección: 20  $\mu$ l

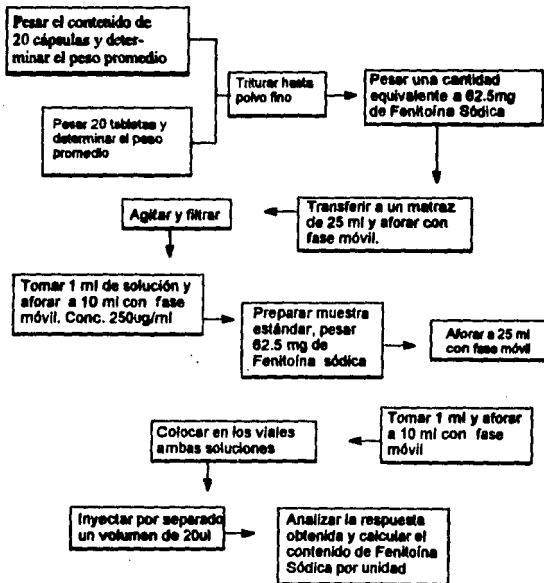


Figura 4. Método de valoración de principio activo por CLAR para cápsulas y tabletas (40)

#### **5.4 VALIDACION DE METODOS ANALITICOS PARA EL ESTUDIO DE DISOLUCION DE CAPSULAS Y TABLETAS**

Para la validación del método analítico se utilizó como estándar materia prima valorada con un 99.84 % de contenido de principio activo la cual fue donada por los Laboratorios Parke Davis.

##### **5.4.1 Método analítico por espectrofotometría UV para la cuantificación de Fenitoína en el medio de disolución. (11)**

Pesar una cantidad determinada de Fenitoína sódica, transferir a un matraz y aforar con agua, tomar una alícuota y transferir a un matraz, aforar con mezcla 4:100 de solución de ácido clorhídrico 1:100 y etanol absoluto, leer a 258 nm en el espectrofotómetro, usando como blanco de ajuste una solución 1:1 de agua y mezcla 4:100 de solución de ácido clorhídrico 1:100 y etanol absoluto.

##### **5.4.2 Método analítico por CLAR para la cuantificación de Fenitoína en el medio de disolución. (37)**

Pesar una cantidad de fenitoína sódica, transferir a un matraz y aforar con metanol-agua 55:45, realizar las diluciones necesarias tomando alícuotas de esta solución y aforar con la misma mezcla de metanol-agua. Colocar en los viales del automuestreador e inyectar un volumen de 25  $\mu$ l, correr el cromatograma y evaluar la respuesta obtenida.

Condiciones de operación del sistema cromatográfico.

Cromatógrafo: BECKMAN SYSTEM GOLD  
Fase móvil: Metanol-Agua 55:45  
Columna: ODS 0.5  $\mu$ , 4.6 mm x 25 cm  
Vel. de flujo: 1.5 ml/min  
Longitud de onda: 254 nm  
Vol. de inyección: 25  $\mu$ l

Los parámetros de validación evaluados para ambos métodos analíticos fueron los siguientes:

a) Linealidad del sistema

Se prepararon 3 curvas de calibración independientes usando concentraciones de 15, 30, 60, 75 y 120  $\mu\text{g/ml}$  de Fenitoína Sódica estándar equivalentes al 10, 30, 50, 60 y 100 % respectivamente. Las muestras se analizaron de acuerdo al método mostrado en la Figura 5 y 6 respectivamente.

Especificaciones:

$$\begin{aligned} \text{C.V.} &\leq 1.5\% \\ r &\geq 0.99 \quad r^2 \geq 0.98 \end{aligned}$$

b) Linealidad del método

Se prepararon 3 curvas de calibración independientes usando concentraciones de 15, 30, 60, 75 y 120  $\mu\text{g/ml}$  de Fenitoína Sódica estándar equivalentes al 10, 30, 50, 60 y 100 % respectivamente (muestras cargadas). Las muestras se analizaron de acuerdo al método mostrado en la Figura 5 y 6 respectivamente.

Especificaciones:

	Método cromatográfico	Método Espectrofotométrico
Recobro:	98-102%	97-103%
C.V. :	$\leq 2\%$	$\leq 3\%$
	$m \approx 1, b \approx 0, r^2 \geq 0.98$	

c) Exactitud y Repetibilidad al 100 %

Se analizaron 6 muestras equivalentes al 100 % de Fenitoína Sódica (muestras cargadas) empleando el método mostrado en la Figura 5 y 6 respectivamente.

**Especificaciones:**

Exactitud: Evaluar mediante t de student ( $t_{calc}$ )  
Repetibilidad: Evaluar mediante ji cuadrada ( $\chi^2$ )

	Método cromatográfico	Método Espectrofotométrico
Recobro:	98-102%	97-103%
C.V.:	≤ 2%	≤ 3%

d) Precisión (Repetibilidad en diferentes días)

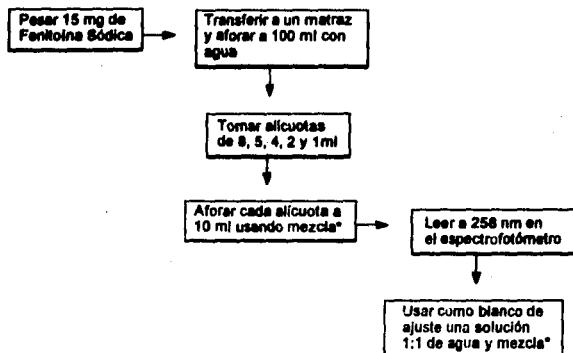
Se analizó una muestra (muestras cargadas) equivalente al 100 % , en dos días diferentes y por triplicado. En este caso solo se determinó la variación entre días con el mismo analista. Las determinaciones se hicieron de acuerdo al método mostrado en la Figura 5 y 6 respectivamente.

**Especificaciones:**

	Método cromatográfico	Método Espectrofotométrico
Recobro:	98-102%	97-103%
C.V.:	≤ 2%	≤ 3%

**Muestras cargadas**

Se preparo una solución con muestra del producto a estudiar, cuya concentración fue igual a la solución estándar (15 µg/ml), y para la validación del método, las muestras problema contenían un 50% de solución de muestra y un 50% de solución estándar, siguiendo el método mostrado en las Figuras 5 y 6 respectivamente.



\*Mezcla 4:100 de solución de ácido clorhídrico 1:100 y etanol absoluto

Figura 5. Método de preparación de la curva de calibración usando espectrofotometría UV.

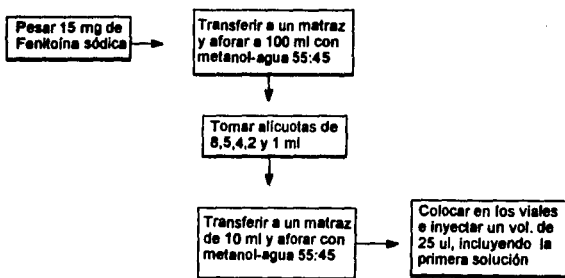


Figura 6. Método de preparación de la curva de calibración usando CLAR.

## 6.6 ESTUDIO DE DISOLUCION

Las condiciones de operación para la prueba de disolución fueron las mismas tanto para cápsulas como para tabletas. Colocar una tableta o cápsula en cada una de las seis canastillas del disolutor y tomar muestras a los 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75 y 90 minutos, analizar tanto por el método espectrofotométrico (FEUM 5ª Ed.) como por cromatografía de líquidos de alta resolución (USP XXII), realizando el perfil de disolución por duplicado.

Las condiciones de operación con las que se trabajo son las siguientes:

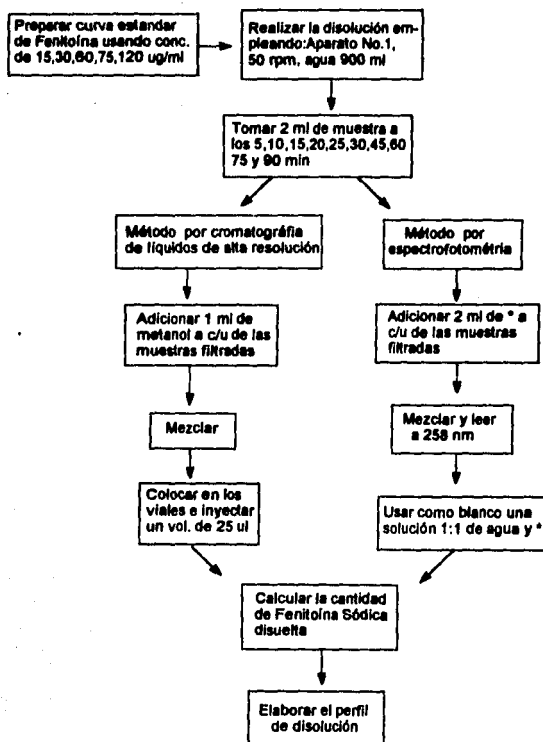
Medio de disolución: Agua, 900 ml  
Velocidad de agitación: 50 r.p.m  
Método: Canastillas (Aparato 1)  
Temperatura:  $37 \pm 0.5$  °C

Especificaciones: para esta prueba está establecido que no menos del 85 % de Fenitoína Sódica debiera disolverse a los 30 minutos, tanto para cápsulas como para tabletas de acción normal (11,37)

Los resultados se interpolaron en una curva de calibración de Fenitoína Sódica estándar, la cuál fue preparada el mismo día con el fin de obtener los resultados bajo las mismas condiciones de trabajo. En la Figura 7 se muestra la metodología seguida para realizar la disolución

Una vez obtenidos los perfiles de disolución de todos los productos en estudio, se determino si existe diferencia significativa en el porciento disuelto, al tiempo especificado ( FEUM 5ªed. como en la USP XXII), tanto entre métodos analíticos, como entre proveedores, lo cual se realizo por medio de un análisis de varianza de un factor por bloques al azar.

Además se determino la cinética de disolución, el TMD y t 1/2 para conocer el comportamiento "in vitro" y determinar si existe equivalencia farmacéutica de los productos estudiados.



\* Mezcla 4:100 de solución de HCl 1:100 y etanol absoluto

Figura 7. Procedimiento empleado para la prueba de disolución de Fentoina Utilizando Espectrofotometría UV y CLAR



## **VI RESULTADOS Y ANALISIS**

### **6.1 Control de calidad de los productos estudiados**

Los resultados de los controles de calidad realizados para cápsulas y tabletas se muestran en la Tabla II.

#### ***Identidad***

El ensayo de identidad del principio activo se realizó a cada uno de los lotes, encontrando que las reacciones de identidad corresponden a la sustancia de interés por lo que todos los productos analizados cumplen con la prueba de identidad.

#### ***Desintegración***

El tiempo de desintegración de cada uno de los productos estudiados cumple con las especificaciones, tanto para cápsulas como para tabletas.

#### ***Friabilidad***

Todos los productos cuya forma farmacéutica fue tabletas cumplen con la prueba de friabilidad ya que ninguno presentó una pérdida de peso mayor al 1%.

#### ***Variación de peso***

Todos los productos estudiados cumplen con la prueba de variación de peso.

#### ***Dureza***

Considerando que el valor promedio de dureza para tabletas es de 4 a 10 Kg, se encontró que únicamente el producto E1 no cumple con la especificación.

#### ***Uniformidad de contenido***

Todos los productos analizados cumplen con la prueba de uniformidad de contenido.

#### ***Valoración del principio activo***

Todos los productos estudiados cumplen con la prueba de valoración, observándose que el producto A2 se encuentra en el límite inferior.

Producto	Desintegración minutos	Friabilidad %	Varianza de peso (mg)	Dureza Kg	Uniformidad de partículas %	Velocidad angulosa
A 1	13:59	∅	249.5 (8.17)	∅	98.81 (1.66)	106.6
A 2	12:22	∅	292.0 (7.90)	∅	97.15 (3.92)	93.28
B 1	3:31	0.08	318.5 (6.20)	7.2	97.64 (4.10)	100.96
B 2	5:49	0.60	329.4 (4.60)	6.7	96.06 (2.77)	99.61
C 1	6:56	0.15	220.7 (1.50)	7.1	98.17 (4.03)	99.62
C 2	3:31	0.08	208.1 (4.51)	7.9	100.53 (3.18)	102.53
D 1	3:35	0.52	229.7 (2.20)	5.6	96.92 (3.28)	100.97
D 2	3:26	0.77	236.4 (2.20)	5.5	95.20 (2.15)	99.66
E 1	3:38	0.26	252.0 (1.24)	13.7 ▲	99.21 (3.24)	99.18
E 2	3:50	0.18	260.3 (5.12)	9.0	97.12 (3.31)	95.44

∅ = no se realizó

▲ = no pesa la prueba

( ) = valor de D.E.R.

Tabla II. Resultados de los análisis de control de calidad de los productos estudiados

## 6.2 Validación Del Método Espectrofotométrico para el Estudio de Disolución

### A) Linealidad del sistema

Los resultados de linealidad del sistema para cuantificar Fenitoína, se muestran en la Tabla III en la cual se pueden observar los valores de absorbancia obtenidos para cada una de las curvas en un intervalo de 15 a 120 µg/ml de Fenitoína, así como también el valor promedio de las tres curvas, el coeficiente de variación para cada nivel y los valores de coeficiente de correlación ( $r$ ), coeficiente de determinación ( $r^2$ ), ordenada al origen ( $a$ ) y la pendiente ( $b$ ), encontrando que el sistema es lineal, ya que los valores obtenidos en la regresión lineal cumplen con las especificaciones. En la Figura 8 se observa la gráfica obtenida para evaluar la linealidad del sistema espectrofotométrico.

Concentración µg/ml	Curva 1 Absorbancia	Curva 2 Absorbancia	Curva 3 Absorbancia	Promedio	C.V %
15	0.0370	0.0365	0.0360	0.0365	1.36
30	0.0710	0.0700	0.0700	0.0703	0.82
60	0.1350	0.1350	0.1370	0.1356	0.85
75	0.1709	0.1720	0.1700	0.1709	0.58
120	0.2820	0.2790	0.2790	0.2800	0.61
$r=$	0.9999	0.9999	0.999	0.9999	
$r^2=$	0.9986	0.9997	0.9988	0.9995	
$a=$	$3.66 \times 10^{-3}$	$4.86 \times 10^{-3}$	$3.22 \times 10^{-3}$	$3.91 \times 10^{-3}$	
$b=$	$2.24 \times 10^{-3}$	$2.22 \times 10^{-3}$	$2.27 \times 10^{-3}$	$2.24 \times 10^{-3}$	

$a$ =ordenada al origen  
 $b$ =pendiente

C.V. = coeficiente de variación  
 $r^2$ =coeficiente de determinación

$r$ =coeficiente de correlación

Tabla III. Resultados de la linealidad del sistema espectrofotométrico

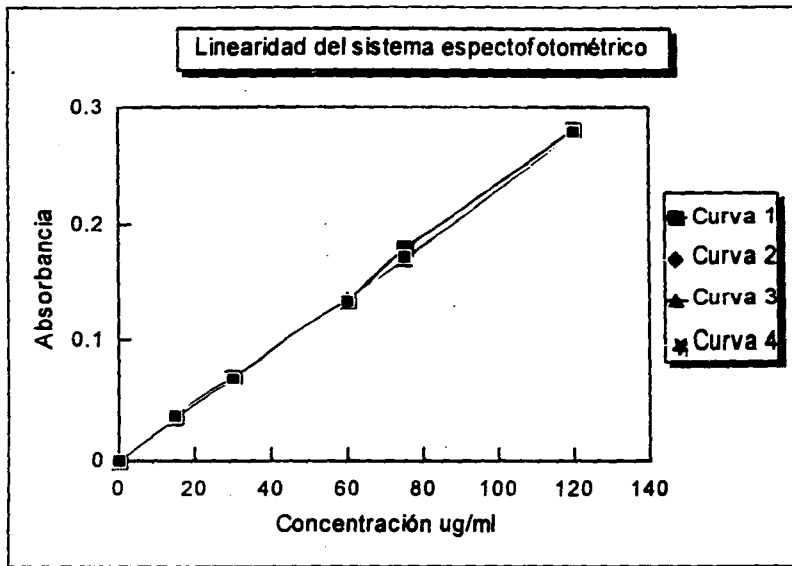


Figura 8. Gráfica de la Linealidad del sistema espectrofotométrico

## B) Linealidad del método

Los resultados de linealidad del método para cuantificar Fenitoína, se muestran en la Tabla IV en la cual se pueden observar los valores promedio de % recuperado obtenidos para cada producto en un intervalo de 15 a 120  $\mu\text{g/ml}$  de Fenitoína, el coeficiente de variación para cada nivel y los valores del coeficiente de determinación ( $r^2$ ), pendiente (b) y la ordenada al origen (a), encontrando que el método es lineal, ya que los valores obtenidos en la regresión lineal cumplen con las especificaciones. En la Figura 9 se observa la gráfica obtenida para evaluar la linealidad del método espectrofotométrico para cada producto.

$\mu\text{g/ml}$ adicionados	Cantidad recuperada $\mu\text{g/ml}$				
	Producto A	Producto B	Producto C	Producto D	Producto E
15	14.73 (1.87)	14.97 (0.873)	15.08 (0.869)	15.75 (15.10)	15.04 (0.732)
30	29.79 (1.08)	30.18 (1.047)	30.21 (0.951)	29.61 (1.79)	29.49 (1.82)
60	60.61 (0.853)	59.85 (0.335)	60.12 (0.370)	60.45 (0.812)	60.18 (0.341)
75	74.84 (0.202)	75.45 (0.884)	74.93 (0.107)	75.34 (0.446)	74.90 (0.888)
120	120.72 (0.819)	119.83 (0.743)	119.87 (0.887)	120.39 (0.808)	119.98 (1.089)
$r^2=$	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
a=	-0.3886	0.1226	0.2086	-0.1326	-0.1780
b=	1.0087	0.9988	0.9972	1.0051	1.0016

$r^2$ =coeficiente de determinación  
a=ordenada al origen  
b=pendiente  
( )=Coeficiente de variación

Tabla IV. Resultados de linealidad del método espectrofotométrico

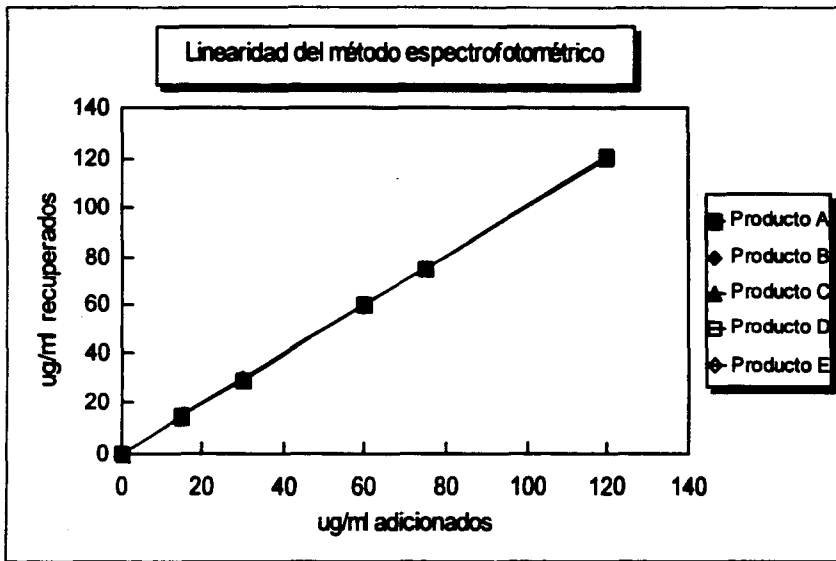


Figura 9. Gráfica de la linealidad del método espectrofotométrico

## C) Exactitud y Repetibilidad al 100%

En la Tabla V se muestran los resultados de la repetibilidad del método espectrofotométrico, la cuál se evaluo por medio del estadígrafo de contraste ji cuadrada ( $\chi^2$ ), encontrando que el método es repetible, ya que el coeficiente de variación es menor al 3% y la hipótesis nula fue aceptada.

Producto	A	B	C	D	E	$\chi^2_{tab.}$	Criterio de Rechazo
$\chi^2_{calc}$	5.12	4.16	7.14	4.62	3.28	11.07	$\chi^2_{calc} \geq \chi^2_{\alpha/2}$
C.V.	1.86	1.20	2.05	1.89	0.88		

Tabla V. Resultados de la Repetibilidad para el método espectrofotométrico

Los resultados de la exactitud del método espectrofotométrico, se muestran en la Tabla VI, así como el estadígrafo de contraste  $t_{student}$  utilizado para su evaluación, encontrando que el método es exacto al 100 %, ya que la hipótesis nula fue aceptada y el coeficiente de variación es menor al 3%.

Producto	A	B	C	D	E	$t_{tab.}$	Criterio de Rechazo
$t_{calc}$	-4.42	0.562	-2.86	0.96	1.26	2.13	$t_{calc} \geq t_{1-\alpha/2}$
C.V.	1.20	0.80	0.18	0.36	1.06		

Tabla VI. Resultados de la Exactitud del método espectrofotométrico

## D) Precisión (Repetibilidad en diferentes días)

Los resultados de la precisión del método espectrofotométrico se muestran en la Tabla VII, para su evaluación fue empleado un análisis de varianza (ANDEVA) de un factor totalmente aleatorio, encontrando que la F calculada es menor a la de tablas, por lo tanto se acepta la hipótesis nula, lo cual nos indica que no existe diferencia significativa al realizar los análisis en diferentes días.

Producto	A	B	C	D	E	$F_{tab.}$	Criterio de rechazo
$F_{calc}$	-4.08	3.68	-2.73	1.28	3.64	6.61	$F_{calc} \geq F_{1-\alpha, k/2}$

Tabla VII. Resultados de Precisión del método Espectrofotométrico



## 6.3 Validación del Método Cromatográfico para el Estudio de disolución

## A) Linealidad del sistema

Los resultados de linealidad del sistema para cuantificar Fenitoína, se muestran en la Tabla VIII en la cual se puede observar los valores de altura de los picos obtenidos para cada curva estándar en un intervalo de 15 a 150  $\mu\text{g/ml}$ , así como también el valor promedio de las tres curvas, el coeficiente de variación para cada nivel y los valores de coeficiente de correlación ( $r$ ), coeficiente de determinación ( $r^2$ ), ordenada al origen ( $a$ ) y la pendiente ( $b$ ), encontrando que el sistema es lineal, ya que los valores obtenidos en la regresión lineal cumplen con las especificaciones. En la Figura 10 se observa la gráfica obtenida para evaluar la linealidad del sistema.

Concentración $\mu\text{g/ml}$	Curva 1 altura	Curva 2 altura	Curva 3 altura	Promedio	C.V. %
15	0.001978	0.001978	0.001943	0.001968	1.02
30	0.003883	0.003884	0.003827	0.003864	0.84
60	0.007490	0.00759	0.00784	0.007573	1.00
75	0.009578	0.009584	0.009657	0.009608	0.48
120	0.014898	0.014810	0.014950	0.014886	0.47
150	0.018832	0.018444	0.018444	0.018758	1.51
a=	0.000126	0.000160	0.000229	0.000171	
b=	0.000124	0.000124	0.000122	0.000124	
r=	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	
r <sup>2</sup> =	0.9997	0.9993	0.9994	0.9997	

a=ordenada al origen    C.V. = coeficiente de variación    r=coeficiente de correlación  
b=pendiente            r<sup>2</sup>=coeficiente de determinación

Tabla VIII. Resultados de los valores de la linealidad del sistema cromatográfico

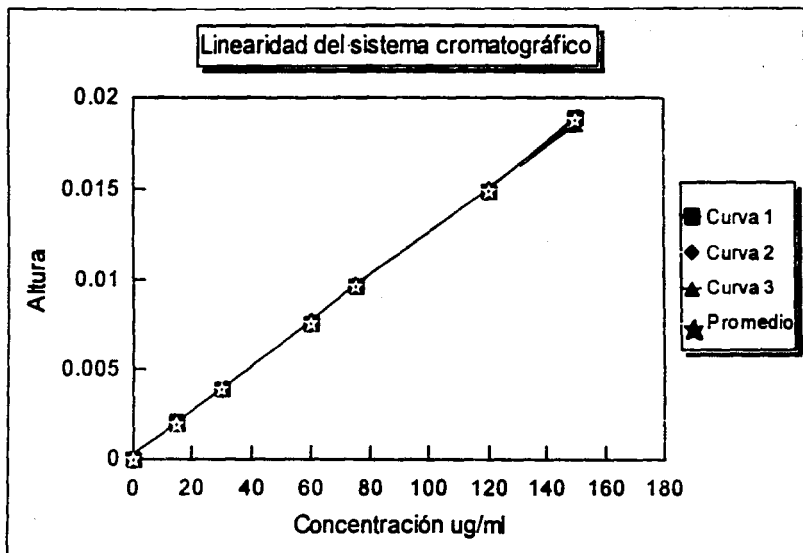


Figura 10. Gráfica de la linealidad del sistema Cromatográfico

## B) Linealidad del método

Los resultados de linealidad del método para cuantificar Fenitoína, se muestran en la Tabla IX en la cual se pueden observar los valores promedio de % recuperada obtenida para cada producto en un intervalo de 15 a 150  $\mu\text{g/ml}$  de Fenitoína, el coeficiente de variación para cada nivel y los valores del coeficiente de determinación ( $r^2$ ), pendiente (b) y la ordenada al origen (a), encontrando que el método es lineal, ya que los valores obtenidos en la regresión lineal cumplen con las especificaciones. En la Figura 11 se observa la gráfica obtenida para evaluar la linealidad del método cromatográfico para cada producto.

	Cantidad recuperada $\mu\text{g/ml}$				
$\mu\text{g/ml}$ adicionados	Producto A	Producto B	Producto C	Producto D	Producto E
15	15.14 (0.915)	15.03 (1.401)	15.13 (1.652)	15.02 (1.157)	14.95 (0.870)
30	30.18 (0.732)	30.48 (1.551)	30.16 (1.195)	30.67 (1.762)	30.89 (1.366)
60	59.86 (0.367)	60.42 (0.856)	60.09 (0.369)	60.14 (0.736)	60.96 (0.325)
75	75.02 (0.133)	74.96 (0.981)	75.20 (0.529)	75.46 (0.987)	75.56 (0.525)
120	120.07 (0.887)	120.83 (0.270)	120.62 (1.060)	120.44 (1.123)	119.76 (1.254)
150	149.93 (0.165)	150.37 (0.368)	150.78 (0.309)	149.88 (0.462)	149.53 (1.014)
$r^2 =$	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
a =	0.1250	0.1516	-0.0591	0.3941	0.8166
b =	0.9987	1.0026	1.0051	0.9983	0.9927

$r^2$  = coeficiente de determinación      b = pendiente  
a = ordenada al origen                      ( ) = coeficiente de variación

Tabla IX. Resultados de la linealidad del método cromatográfico

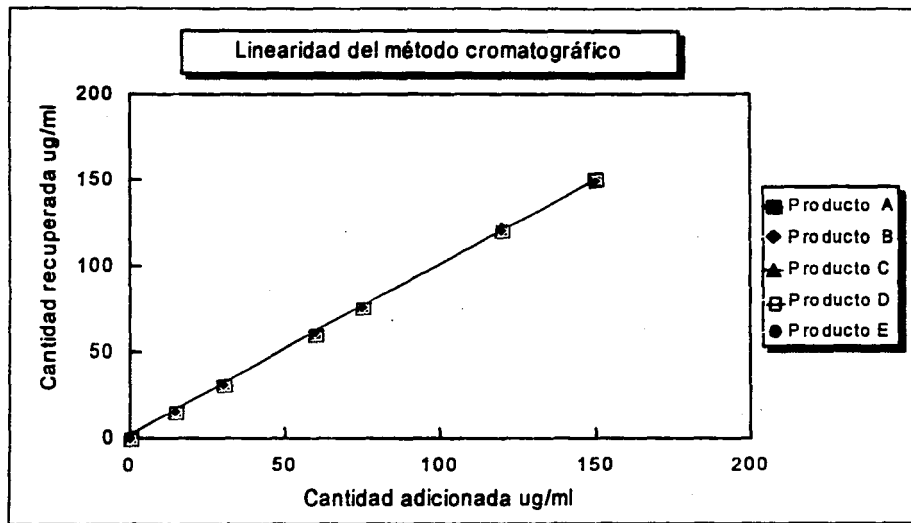


Figura 11. Gráfica de la linealidad del método Cromatográfico

## C) Exactitud y Repetibilidad al 100%

En la Tabla X se muestran los resultados de la repetibilidad del método cromatográfico, la cual se evaluó por medio del estadígrafo de contraste ji cuadrada ( $\chi^2$ ), encontrando que el método es repetible, ya que el coeficiente de variación es menor al 3% y la hipótesis nula fue aceptada.

Producto	A	B	C	D	E	$\chi^2_{calc}$	Criterio de Rechazo
$\chi^2_{calc}$	1.33	2.16	1.26	2.45	4.16	11.07	$\chi^2_{calc} \geq \chi^2_{\alpha/2}$
C.V.	0.96	1.04	1.03	0.861	0.876		

Tabla X. Resultados de la Repetibilidad para el método cromatográfico

Los resultados de la exactitud del método cromatográfico, se muestran en la Tabla XI, así como el estadígrafo de contraste t student, utilizado para su evaluación, encontrando que el método es exacto al 100 %, ya que la hipótesis nula fue aceptada y el coeficiente de variación es menor al 3%.

Producto	A	B	C	D	E	t <sub>calc</sub>	Criterio de Rechazo
t <sub>calc</sub>	0.475	0.310	-0.851	-0.128	-0.457	2.13	t <sub>calc</sub> ≥ t <sub>1-α/2</sub>
C.V.	0.68	1.40	0.92	1.22	0.92		

Tabla XI. Resultados de la Exactitud del método cromatográfico

## D) Precisión (Repetibilidad en diferentes días)

Los resultados de la precisión del método cromatográfico se muestran en la Tabla XII, para su evaluación fue empleado un análisis de varianza (ANDEVA) de un factor totalmente aleatorio, encontrando que la F calculada es menor a la de tablas, por lo tanto se acepta la hipótesis nula, lo cual nos indica que no existe diferencia significativa al realizar los análisis en diferentes días.

Producto	A	B	C	D	E	F <sub>calc</sub>	Criterio de Rechazo
F <sub>calc</sub>	0.204	0.386	0.261	-1.18	0.164	6.61	F <sub>calc</sub> ≥ F <sub>1-α, 1/2</sub>

Tabla XII. Resultados de Precisión del método Cromatográfico

## 6.4 Estudio de Disolución

En esta Tabla XIII se muestra el valor promedio de la cantidad disuelta de Fenitoína expresada en porcentaje, obtenida al cuantificar por el método espectrofotométrico a cada tiempo de muestreo, así como la desviación estándar entre vasos para cada uno de los productos estudiados.

Producto	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
A 1	0 (0)	3.64 (1.14)	6.28 (1.96)	7.86 (2.01)	12.77 (2.27)	19.20 (2.63)	37.19 (2.11)	53.05 (4.66)	59.48 (3.29)	68.05 (4.63)
A 2	0 (0)	9.63 (3.1)	16.68 (9.2)	29.61 (6.1)	54.62 (13.5)	70.60 (18.6)	90.43 (15.8)	100.72 (9.23)	103.96 (13.3)	105.25 (10.7)
B 1	43.88 (12.2)	50.31 (7.16)	61.63 (4.9)	76.22 (5.6)	89.96 (5.3)	102.25 (7.3)	110.91 (4.3)	111.76 (3.5)	112.11 (5.8)	113.58 (2.8)
B 2	44.57 (4.6)	63.59 (5.7)	88.79 (14.7)	103.82 (10.9)	110.15 (4.16)	112.60 (2.3)	113.52 (2.9)	113.48 (3.2)	112.10 (3.8)	112.81 (3.06)
C 1	32.72 (4.1)	58.53 (6.6)	66.20 (6.3)	74.85 (7.0)	78.12 (7.1)	81.88 (4.3)	93.98 (2.9)	96.68 (2.7)	97.72 (4.4)	98.41 (3.5)
C 2	74.84 (9.5)	93.69 (12.3)	99.80 (11.7)	107.65 (11.9)	107.38 (10.2)	108.99 (7.7)	109.44 (6.5)	111.32 (4.5)	112.30 (4.6)	108.81 (4.6)
D 1	78.20 (9.8)	97.17 (6.6)	102.20 (2.3)	103.93 (6.6)	103.58 (1.7)	102.49 (2.2)	101.78 (4.6)	100.69 (3.5)	102.77 (2.1)	102.66 (4.3)
D 2	87.49 (15.6)	98.20 (4.2)	104.92 (4.4)	108.38 (6.4)	106.80 (4.2)	104.92 (3.9)	107.35 (3.3)	108.15 (2.0)	107.12 (3.4)	109.44 (3.2)
E 1	69.99 (12.4)	92.60 (6.5)	109.04 (4.3)	112.59 (2.4)	114.39 (3.0)	115.20 (3.0)	115.36 (3.0)	116.40 (2.5)	116.26 (4.3)	117.20 (2.4)
E 2	63.55 (3.7)	82.68 (5.6)	97.05 (5.5)	97.93 (4.6)	109.41 (5.7)	109.68 (3.1)	112.11 (4.1)	112.64 (4.6)	111.96 (6.5)	111.82 (6.1)

( ) = desviación estándar entre vasos

Tabla XIII. Resultados del porcentaje disuelto obtenido al cuantificar Fenitoína por espectrofotometría UV

En la Figura 12 se observa la diferencia existente entre los perfiles de disolución para cada uno de los productos analizados por el método espectrofotométrico.

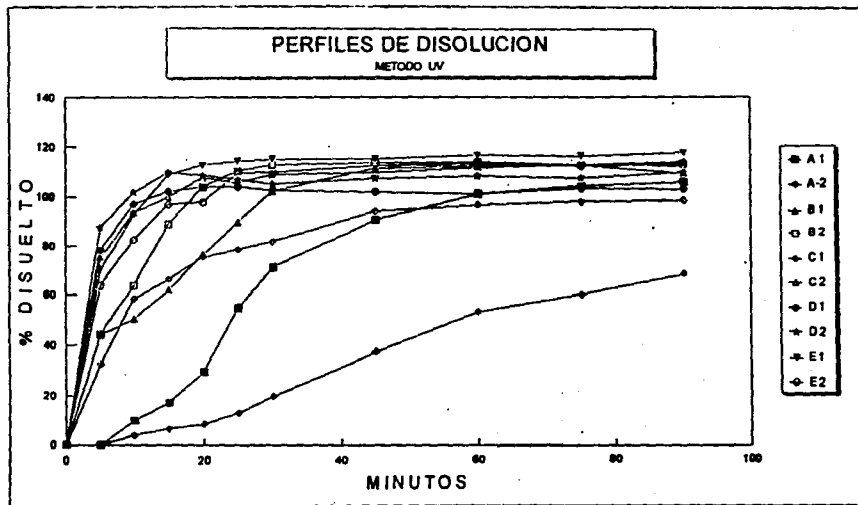


Figura 12. Gráfica de los perfiles de disolución de los productos estudiados por el método espectrofotométrico

En esta Tabla XIV se muestra el valor promedio de la cantidad disuelta de Fenitoína expresada en porciento, obtenida al cuantificar por el método cromatográfico a cada tiempo de muestreo, así como la desviación estándar entre vasos para cada uno de los productos estudiados.

	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
A 1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4.04 (2.71)	11.96 (3.22)	18.06 (4.67)	29.72 (5.37)	39.99 (5.70)	46.61 (6.16)	51.51 (7.09)
A 2	0 (0)	0.54 (0.88)	5.33 (3.80)	23.72 (12.0)	39.44 (8.8)	69.71 (9.9)	72.39 (9.1)	76.65 (4.8)	81.58 (5.6)	86.90 (5.9)
B 1	32.10 (5.9)	46.07 (6.1)	62.20 (15.5)	71.72 (14.1)	85.67 (13.5)	97.05 (5.8)	98.15 (5.8)	98.12 (3.07)	98.81 (4.2)	102.46 (5.2)
B 2	48.14 (18.7)	82.07 (25.2)	85.83 (8.35)	86.40 (4.7)	93.07 (4.13)	93.71 (5.5)	93.30 (5.7)	94.03 (2.67)	97.83 (2.91)	98.37 (4.37)
C 1	20.40 (4.22)	49.26 (8.07)	59.05 (8.91)	67.96 (5.52)	75.95 (7.90)	78.52 (4.7)	86.56 (3.7)	85.51 (1.78)	87.91 (2.88)	95.80 (1.78)
C 2	43.45 (7.15)	56.69 (8.23)	67.51 (8.67)	74.73 (3.10)	75.99 (7.35)	82.29 (6.44)	84.80 (5.17)	88.49 (4.24)	86.99 (4.94)	87.53 (5.8)
D 1	50.37 (6.8)	70.59 (6.0)	73.21 (5.1)	78.04 (1.18)	78.69 (3.38)	81.06 (2.44)	81.46 (1.48)	83.90 (2.23)	83.23 (1.15)	84.90 (2.71)
D 2	42.69 (3.5)	69.43 (2.8)	79.15 (3.0)	84.30 (2.38)	86.63 (3.4)	90.90 (2.6)	90.69 (1.7)	91.03 (1.25)	89.75 (1.81)	94.14 (2.8)
E 1	34.66 (4.2)	65.66 (5.1)	95.50 (1.3)	96.42 (1.3)	97.97 (1.4)	99.67 (1.78)	100.60 (1.72)	101.43 (1.71)	103.85 (2.0)	104.59 (1.72)
E 2	34.06 (3.8)	53.49 (4.32)	75.35 (5.7)	82.35 (4.12)	96.46 (0.97)	99.00 (2.9)	99.91 (1.85)	101.50 (1.88)	101.94 (1.11)	103.79 (0.78)

( ) = desviación estándar entre vasos

Tabla XIV. Resultados del porciento disuelto obtenido al cuantificar Fenitoína por CLAR



En la Figura 13 se observa la diferencia existente entre los perfiles de disolución para cada uno de los productos analizados por el método cromatográfico.

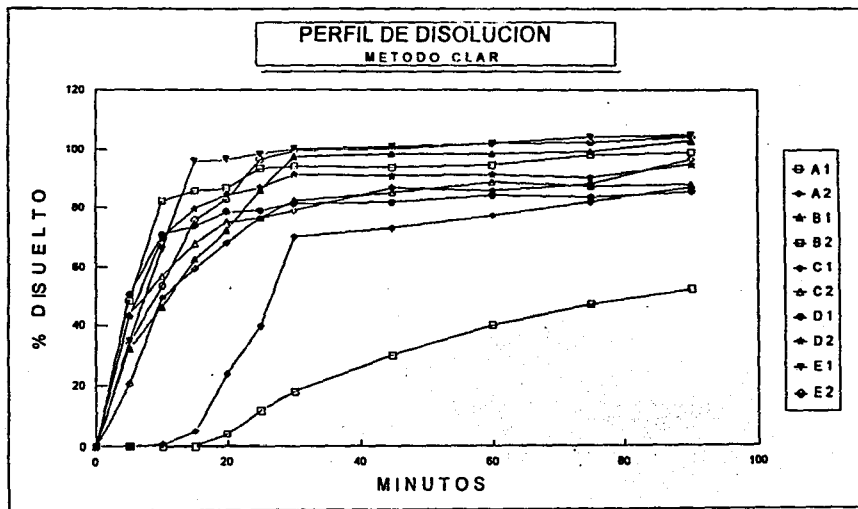


Figura 13. Gráfica de los perfiles de disolución de los productos estudiados por el método cromatográfico

En las Figuras 14 y 15 se observa la diferencia entre los perfiles de disolución al realizarlos por diferentes métodos analíticos y la desviación estándar (I), así como la diferencia entre lotes de un mismo producto.

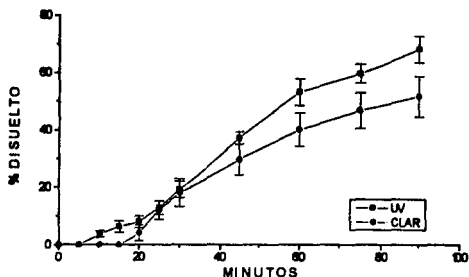


Figura 14. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO A 1

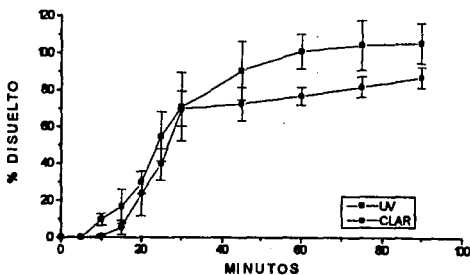


Figura 15. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO A 2

En las Figuras 16 y 17 se observa la diferencia entre los perfiles de disolución al realizarlos por diferentes métodos analíticos y la desviación estándar (I), así como la diferencia entre lotes de un mismo producto.

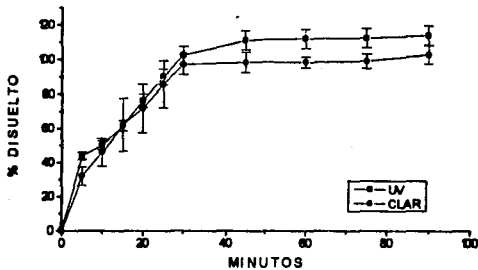


Figura 16. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO B 1

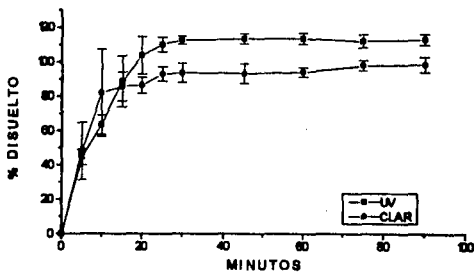


Figura 17. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO B 2

En las Figuras 18 y 19 se observa la diferencia entre los perfiles de disolución al realizarlos por diferentes métodos analíticos y la desviación estándar (I), así como la diferencia entre lotes de un mismo producto.

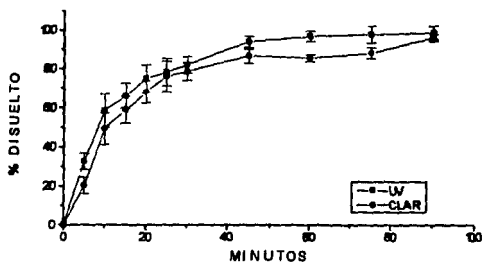


Figura 18. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO C 1

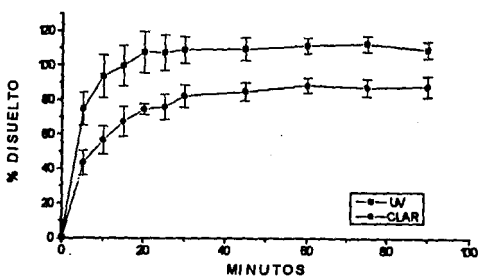


Figura 19. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO C 2

En las Figuras 20 y 21 se observa la diferencia entre los perfiles de disolución al realizarlos por diferentes métodos analíticos y la desviación estándar (I), así como la diferencia entre lotes de un mismo producto.

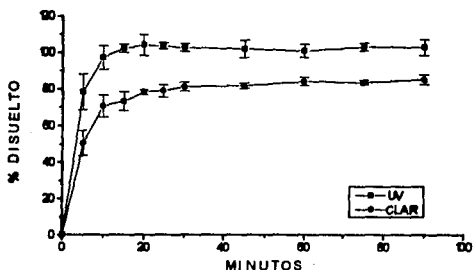


Figura 20. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO D 1

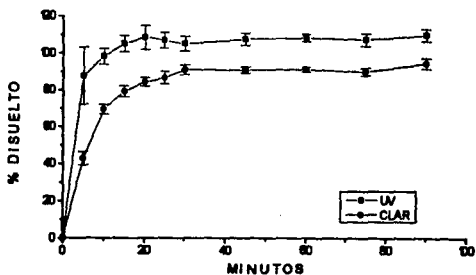


Figura 21. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO D 2

En las Figuras 22 y 23 se observa la diferencia entre los perfiles de disolución al realizarlos por diferentes métodos analíticos y la desviación estándar (I), así como la diferencia entre lotes de un mismo producto.

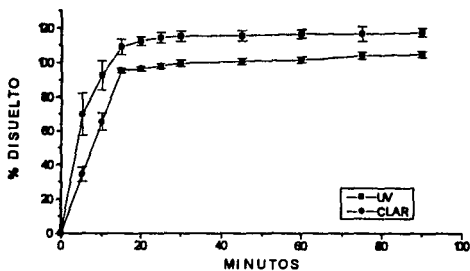


Figura 22. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO E 1

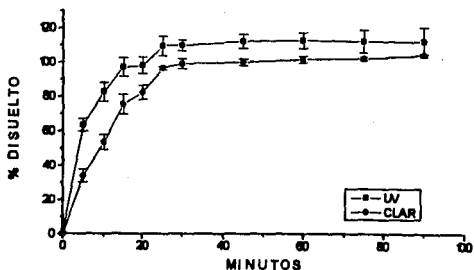


Figura 23. PERFIL DE DISOLUCION COMPARATIVO ENTRE METODOS ANALITICOS PARA EL PRODUCTO E 2

En la Figura 24 se observa la gráfica comparativa del porcentaje disuelto obtenido al analizar los productos por Espectrofotometría UV y por CLAR.

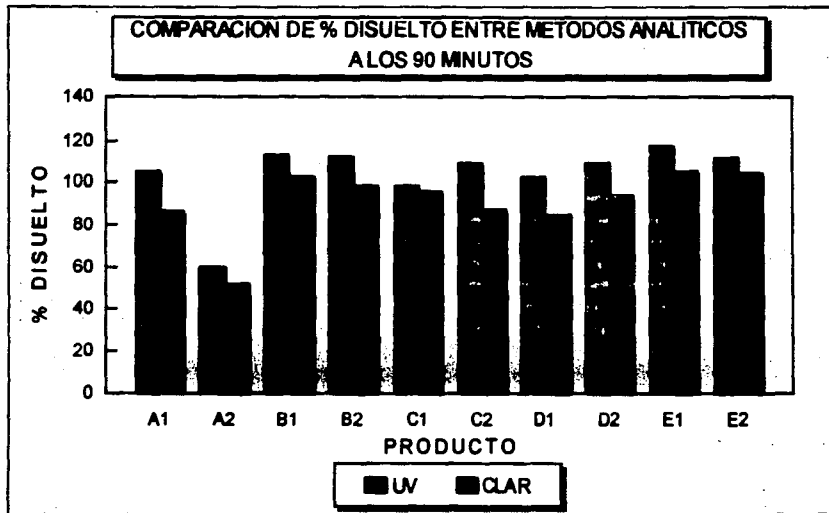


Figura 24. Comparación de UV y CLAR para la evaluación de % disuelto

En los resultados obtenidos de la cantidad disuelta expresada en % a cada tiempo de muestreo para los productos estudiados por el método espectrofotométrico y cromatográfico se observa que hay variación tanto entre lotes, como entre fabricantes así como en la desviación estándar entre vasos para cada tiempo de muestreo, lo cual nos indica que los productos no presentan el mismo comportamiento.

Respecto a la cantidad disuelta tanto la FEUM (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 5ª Ed.) como la USP XXII indican que no menos del 85% de la cantidad etiquetada en el marbete de Fenitoina sódica deberá disolverse a los 30 min, tanto para cápsulas como para tabletas.

Se puede observar en los resultados obtenidos por el método espectrofotométrico los productos A1, A2 y C1, no cumplen con las especificaciones para disolución, sin embargo el porcentaje disuelto para el resto de los productos, fue mayor al 100% lo cual indica que puede existir cierta interferencia en la cuantificación del principio activo, debida a factores de formulación de cada producto.

En los resultados obtenidos por el método cromatográfico se puede observar que cinco de los productos estudiados (A1, A2, C1, C2, Y D1) no cumplen con las especificaciones para disolución, observándose que al emplear este método la cantidad disuelta al tiempo especificado por las farmacopeas, no es mayor al 100%.

Es importante que todos los productos cumplan con las especificaciones de disolución, ya que al no cumplir, se ve afectada la disponibilidad del fármaco y por tanto el efecto terapéutico del mismo.

También se puede observar que ninguno de los lotes de cápsulas (Producto A1 y A2) cumple con las especificaciones de disolución para cápsulas de acción normal.

En la gráfica de barras se puede apreciar claramente la diferencia existente entre la cantidad disuelta a los 90 minutos al emplear diferentes métodos analíticos, lo cual es de gran importancia, ya que se esperaba encontrar que la respuesta fuera igual o similar al emplear diferentes metodologías.



### A) Cinética de Disolución

Se realizó la cinética de disolución para conocer el comportamiento *in vitro* de los productos estudiados con el fin de establecer a que modelo se ajustaban mejor los datos de los perfiles de disolución encontrando que estos se ajustan a cinéticas de cero y primer orden. En los resultados que se muestran en la Tabla XIII se puede observar que los productos se ajustan a una cinética de disolución de primer orden excepto el producto B1 cuya cinética de disolución cambia al usar los datos obtenidos por diferentes métodos analíticos.

Cabe señalar que para la evaluación de cinética de disolución, en algunos productos analizados por el método espectrofotométrico la cantidad disuelta al realizar el análisis es superior al 100 %, lo cual ocasiona que se cuente con muy pocos puntos para calcular la cinética de disolución, ya que en poco tiempo se llega a un valor constante.

En base a la cinética de disolución se determino la constante de velocidad de disolución y el tiempo de vida media ; así mismo se calculó el tiempo medio de disolución ( TMD ); el cual solamente puede calcularse para aquellos perfiles en los que se encuentra mínimo un 63.2 % del fármaco disuelto.

El TMD se calculo con la siguiente ecuación:

$$TMD = \frac{\sum t \Delta A_{dis}}{A_{dis \infty}}$$

en donde :

t = tiempo de muestreo

$\Delta A_{dis}$  = diferencia de % disuelto

$A_{dis \infty}$  = cantidad disuelta a tiempo infinito

Los resultados de la constante de velocidad de disolución se muestran en la Tabla XV, así como el valor del coeficiente de determinación.

Producto	Método UV	K	r <sup>2</sup>	Método CLAR	K	r <sup>2</sup>
A 1	PRIMER ORDEN	0.029	0.9173	PRIMER ORDEN	0.0096	0.9844
A 2	PRIMER ORDEN	0.0141	0.9821	PRIMER ORDEN	0.0261	0.9654
B 1	PRIMER ORDEN	0.0756	0.9766	ORDEN CERO	2.6426	0.9969
B 2	ORDEN CERO	0.1080	0.9757	PRIMER ORDEN	0.1095	0.9495
C 1	PRIMER ORDEN	0.0834	0.9901	PRIMER ORDEN	0.0420	0.9530
C 2	PRIMER ORDEN	0.2334	0.9644	PRIMER ORDEN	0.0744	0.9987
D 1	PRIMER ORDEN	0.3190	0.9992	PRIMER ORDEN	0.1379	0.9000
D 2	PRIMER ORDEN	0.1410	0.9988	PRIMER ORDEN	0.0695	0.9639
E 1	PRIMER ORDEN	0.1408	0.9996	PRIMER ORDEN	0.1081	0.9269
E 2	PRIMER ORDEN	0.1982	0.9531	PRIMER ORDEN	0.0912	0.9839

K = constante de disolución  
r<sup>2</sup> = coeficiente de determinación

Tabla XV. Valores de constantes de disolución obtenidas para ambos métodos analíticos.

Los resultados del TMD y t 1/2 se muestran en la Tabla XVI, como se puede observar existe gran variación de los valores tanto entre lote como entre fabricante, así como entre métodos analíticos.

Productos	Método UV		Método CLAR	
	TMD MINUTOS	t 1/2 MINUTOS	TMD MINUTOS	t 1/4 MINUTOS
A 1	32	23	—	7
A 2	50	49	3	26
B 1	18	9	18	18
B 2	12	6	12	6
C 1	17	8	22	16
C 2	9	2	12	9
D 1	6	2	11	5
D 2	6	4	21	9
E 1	9	4	7	6
E 2	10	3	13	7

Tabla XVI. Valores de tiempo medio de disolución y vida media de los productos estudiados por ambos métodos analíticos.

### 8.5 Evaluación de Métodos Analíticos y Proveedores

Para establecer si existía diferencia significativa en los perfiles de disolución obtenidos por los diferentes métodos analíticos, se efectuó un análisis de varianza (ANDEVA) de un factor por bloques al azar realizando el análisis en base a la tabla del apéndice 1 para el caso de tabletas como forma farmacéutica, evaluando si existe diferencia significativa entre el porcentaje disueltos a los 30 min ya que es el tiempo especificado tanto en la FEUM como en la USP XXII. También se evaluó a los 45 min para corroborar la evaluación anterior. En la Tabla XVII se muestran los resultados del análisis de varianza, usando como factor de prueba los métodos analíticos

	F calculada	F teórica	Criterio de Rechazo
30 min	224.48	6.61	F calc $\geq$ F tab
45 min	407.29	6.61	

Tabla XVII. Resultados del análisis para determinar si existe diferencia entre métodos analíticos.

Usando el mismo análisis estadístico, se evaluó la diferencia existente en los perfiles de disolución obtenidos por los diferentes productos en estudio, esto se realizó con el fin de verificar si existía variación entre los productos del mercado nacional y determinar si existe equivalencia farmacéutica entre estos. En la Tabla XVIII se muestran los resultados del análisis de varianza usando como factor de prueba los diferentes productos.

	F calculada	F teórica	Criterio de Rechazo
30 min	32.07	5.41	F calc $\geq$ F tab
45 min	186.23	5.41	

Tabla XVIII. Resultados del análisis para determinar si existe diferencia entre productos del mercado nacional.

En la tabla XVII Y XVIII se puede observar que existe diferencia estadísticamente significativa en los perfiles de disolución al usar diferentes métodos analíticos, así como también entre productos de diferentes fabricantes.

Una vez que se ha establecido la diferencia existente entre fabricantes, es importante conocer cuales productos son diferentes entre sí, para lo cual se realizó la prueba de la diferencia significativa mínima de Fisher (D.M.S), encontrando que todos los productos son diferentes significativamente, de acuerdo a lo obtenido en la Tabla XIX.

	$\bar{X}1$	$\bar{X}2$	$\bar{X}3$	$\bar{X}4$
$\bar{X}1$	—	13.48	6.56	4.48
$\bar{X}2$	—	—	6.92	17.96
$\bar{X}3$	—	—	—	11.04
$\bar{X}4$	—	—	—	—

Tabla XIX. Valores del análisis estadístico obtenidos en la prueba de Fisher.

Para el caso de los productos cuya forma farmacéutica fue cápsulas, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA), propuesto por Mauger et al (23), en el cual los perfiles son probados por diferencias entre nivel y forma, además de determinar si los perfiles presentan un paralelismo entre sí, es decir si la distancia entre los puntos al mismo tiempo de muestreo es constante.

Esta prueba nos permite hacer una comparación de los perfiles en relación a las variaciones entre lotes y fabricantes. Los datos se analizan en base a la tabla mostrada en el apéndice II.

El parámetro F1 permite evaluar la forma de los perfiles de disolución, y los parámetros F2 y F3, examinan el nivel (concentración) y el paralelismo entre los diferentes perfiles ( $\alpha=0.05$ ), los resultados se observan en la Tabla XX.

F estadística	F teórica	Criterio de Rechazo
F1 3.210	2.46	F calc $\geq$ F tab
F2 23.08	19.16	
F3 10.96	2.44	

Tabla XX. Resultados del análisis estadístico realizado para evaluar cápsulas.

El análisis muestra que en la prueba de nivel F1, existe diferencia en la forma del perfil de lote a lote y entre métodos, la prueba F2 indica que los perfiles se encuentran a diferentes concentraciones y por último la prueba F3 nos indica que los perfiles no son paralelos entre sí, lo cual quiere decir que las curvas no están separadas una con respecto a la otra a una distancia constante para cada punto.

## **VII CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

-Se encontró que el 50% de los productos estudiados no cumplen con las especificaciones de disolución, al ser analizados por el método cromatográfico.

-Al realizar el análisis por el método espectrofotométrico se encontró que el 20 % de los productos no cumplieron con la prueba de disolución lo cual indica que hay efecto del método analítico empleado para la cuantificación del principio activo en la prueba de disolución. Los productos con forma farmacéutica cápsulas presentaron mayor problema al ser analizados por ambos métodos analíticos.

-Al comparar estadísticamente los perfiles de disolución utilizando el método espectrofotométrico y cromatográfico se encontraron diferencias significativas entre los valores de % disuelto a los 30 y 45 minutos, obteniéndose valores más altos al utilizar el método espectrofotométrico lo cual puede atribuirse a la interferencia de excipientes o factores de formulación.

-La mayor parte de los productos estudiados presentó una cinética de disolución de primer orden, excepto el producto B1, cuya cinética de disolución cambio al usar diferente método analítico.

-De acuerdo al comportamiento observado en los perfiles de disolución de los diferentes productos, se puede decir que en nuestro país existen productos de liberación rápida y liberación lenta sin embargo esto no se encuentra especificado en el marbete.

-Se encontró que el método más confiable para realizar este tipo de análisis, es el método cromatográfico, a pesar de que es un método más costoso y que requiere de más tiempo para el análisis, es más selectivo y evita las posibles interferencias en la cuantificación del principio activo.



## VIII *BIBLIOGRAFIA*

---

BIBLIOGRAFIA

1. Aische J.M., Biofarmacia, 2ª ed, El Manual Moderno, México D.F., 1983, pp 86-90
2. Banakar V., Pharmaceutical Dissolution Testing, Marcel Dekker Inc., USA, 1992, pp 133-181
3. Bello Geronimo, "La Cromatografía Líquida de alta Resolución", Pharma News, Vol 2, No.1,1991, pp 19-21
4. Bello Geronimo, "La Cromatografía de Líquidos de alta Resolución", Pharma News, vol 2, No 1, 1991, pp 23-26
5. BEKMAN, Liquid Chromatography Course, Información del Proveedor.
6. Bowman and Rand, Farmacología 2ª ed, Panamericana S.A. , México D.F., 1985, pp 18.22-18.29
7. British Pharmacopoeia, Vol 1 , Published on the recommendation of the Medicines Commission pursuant to the Medicines Act., London Her Majesty's Stationery Office 1988, pp 646
8. Cattori Pedro, "Problemas, causas y remedios en HPLC", Pharma News, vol 2, No 1, 26-29
9. Cid Cárcamo Edison, Cinética de disolución de medicamentos, OEA, Chile, 1981, pp 1-26, 45-55
10. Esbelin B. et al, "A New Method ofm Dissolution In Vitro the "Bio-Dis" Apparatus: Comparison with the Rotating Bottle Method and in vitro: in vivo Correlations", J. Pharm. Sci., 80: 991-994 (1991)
11. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 5ª De, Comision Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Secretaria de Salud, México, 1988, pp 121-123, 1411-1412, 1414-1415.
12. Florey Klaus , Analytical Profiles of Drugs Substances, Vol. 13, Academic Press, lc. USA, 1984, pp 417-445

13. Garrido Ferrn, "Sugerencias importantes en el manejo de su HPLC", Pharma News, vol 2, No 1, pp 18-20
14. Goodman y Gilman, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 8ª ed, Panamericana, México, 1989
15. Gordon Marc S. et al, "Effect of the Mode of Super Disintegrant Incorporation on Dissolution in Wet Granulated Tablets", J. Pharm. Sciences, 82: 220-226 (1993)
16. Hanson W., Handbook of Dissolution Testing, 2ª ed, Astes Publishing Corporation, USA, 1991, pp 1-23
17. Jacques H. Poupaert, et al, "Estructure-Activity Relationships of 2-Iminohydantoinas", J. Med. Chem., 34, 1845-1849 (1991)
18. Katzung B. G., Farmacología Básica y Clínica, 2ª ed, El Manual Moderno S.A., México D.F., 1986, pp 273-277
19. Kenneth A. Connors, Curso de Análisis Farmacéutico, Reverte S.A., 1981 España, pp 195-245
20. Kwon Chu-Hoon, "Synthesis and Anticonvulsant Activity of 2-Iminohydantoinas", J. Med. Chem., 34:1845-1849 (1991)
21. Martindale J.E.F. , The Extra Pharmacopeia, 29ª edición, The Pharmaceuticals Press, London 1982, pp1235-1244
22. Martindale J.E.F. , The Extra Pharmacopeia, 30ª edición, The Pharmaceuticals Press, London 1993, pp 304-309
23. Marques de Cantú María Jose, Probabilidad y Estadística para Ciencias Químico Biológicas, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza, México, 1987 pp 384-396
24. Mauger John et al, " On the analysis of dissolution data ", Drug Dev and Industrial Pharm vol 12, No 7, 1986, pp 969-992
25. Pharma Europa. monografía para cápsulas (Capsules, 1990, 16)

26. Pharma. Europa monografía para tabletas (Compressi, 1990,478)
27. Remington, Farmacia, Tomo I , 17ª Ed., Panamericana, Argentina, 1987, pp 892-908
28. Requisitos Mínimos para la Validación de Métodos Analíticos, Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación, Colegio Nacional De Q.F.B., A.C, México, 1986, pp 2-67
29. Román F. y Garzón A., "Disolución", Rev.Soc.Quím Mex., 25 (3), Mayo-Junio , 1981, pp 447-452
30. Roman F. y Garzón A., "Disolución", Rev.Soc.Quím.Mex., 26 (2), Marzo-Abril, 1982, pp 73-78
31. Rosenstein E., Diccionario de especialidades Farmacéuticas, PLM, 39ª ed., México D.F., 1993, pp 5-19, 520, 569,570
32. Serajuddin Abut T.M. et al, "Influence of pH on Release of Phenytoin Sodium from Slow-release dosage Forms", J. Pharm. Sci., 82:306-310 (1993)
33. Shek Efraim et al, "Improved Anticonvulsant Activity of Phenytoin by a Redox Brain Delivery System III: Brain Uptake and Pharmacological Effects", J. Pharm. Sci., 78:275-278 (1989)
34. Smith C.M., Farmacología, Panamericana, Buenos Aires, 1993, pp 318-325
35. Snyder, et al, Practical HPLC Method Development, A Wiley Interscience Publication, USA, 1988, pp 1-7
36. Su-Chinio, et al, "Automated Drug Dissolution Monitor That Uses a UV-Visible Diode Array Spectrophotometer", J. Pharm. Sci., 82:350-354 (1993)
37. United States Pharmacopeia USP XXII, 22th.Revition, Washington, D.C., U.S.A., United States Pharmacopeial Convention, Inc., 1990, pp 674- 676
38. USP Pharmacopeial forum vol 16, No 2, 1990, pp 299-300

39. Vinod P Shah, et al, "Phenytoin I : In vitro-In vivo Correlation for 100 mg Phenytoin Sodium Capsules", J. Pharm. Sci., 72:306-308 (1983)
40. Vinod P. Shah et al, "Phenytoin II : In Vitro in Vivo bioequivalence standard for 100 mg Phenytoin Sodium Capsules", J. Pharm. Sci., 72:309-310 (1983)
41. Vinod P. Shah et al, "Comparison of Ultraviolet and Liquid Chromatographic Methods for Dissolution Testing of Sodium Phenytoin Capsules", J. Pharm. Sci., 75:1113-1115 (1986)
42. Waters Sourcebook for Analytical HPLC Columns, Waters Division of Millipore, 1989, pp 23-26
43. Yau Martin et al, "In vivo-In vitro Correlations With a Commercial Dissolution Simulator II : Papaverine, Phenytoin and Sufisoxazole", J. Pharm. Sci., 72:681-686 (1983)

## **IX APENDICES**

---

APENDICE I Modelo estadístico empleado para el análisis de resultados

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR POR BLOQUES AL AZAR

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Estadístico de contraste
$\beta_i$	$r-1$	$SC_{\beta} = \sum_{i=1}^r X_i^2 / n_i - \frac{X^2}{N}$	$MC_{\beta} = \frac{CS_{\beta}}{r-1}$	$F_{calc} = \frac{MC_{\beta}}{MC_{e}}$
$T_j$	$c-1$	$SC_{\eta} = \sum_{j=1}^c X_j^2 / n_j - \frac{X^2}{N}$	$MC_{\eta} = \frac{SC_{\eta}}{c-1}$	Criterio de Rechazo $F_{calc} \geq F_{1-\alpha, r, 1, 2}$
$\epsilon_{ij}$	$N-(r-1)(c-1)$	$SC_{error} = SC_{Total} - SC_{\beta} - SC_{\eta}$	$MC_{\epsilon_{ij}} = \frac{SC_{error}}{N - (r-1)(c-1)}$	
Total	$N-1$	$SC_{Total} = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c X_{ij}^2 - \frac{X^2}{N}$		

## APÉNDICE 2

Tabla de Análisis de Varianza para los Perfiles de Disolución de Cápsulas

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	PRUEBA DE F
Intervalos de tiempo (p)	p - 1	$Q1 = N \sum_{j=1}^p (\bar{x}_{.j} - \bar{x}_{...})^2$	$F1 = (N-g) \frac{Q1}{Q5}$
Lotes (g)	g - 1	$Q2 = p \sum_{k=1}^g n_k (\bar{x}_{..k} - \bar{x}_{...})^2$	
Tabletas por cada lote	(N - g)	$Q3 = p \sum_{k=1}^g \sum_{i=1}^k (\bar{x}_{i.k} - \bar{x}_{..k})^2$	$F2 = \frac{(N-g)Q2}{(g-1)Q3}$
Lotes por intervalos de tiempo	(p - 1)(g - 1)	$Q4 = \sum_{k=1}^g \sum_{j=1}^p n_k (\bar{x}_{j.k} - \bar{x}_{.j} - \bar{x}_{..k} + \bar{x}_{...})^2$	
Tabletas por intervalos de tiempo en cada lote	(p - 1)(N - g)	$Q5 = \sum_{k=1}^g \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^p (x_{ij.k} - \bar{x}_{j.k} - \bar{x}_{i.k} - \bar{x}_{..k})^2$	$F3 = \frac{(N-g)Q4}{(g-1)Q5}$
Total	Np - 1	$Q6 = \sum_k \sum_i \sum_j (x_{ijk} - \bar{x}_{...})^2$	