



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**ESTUDIO DE DISOLUCIÓN INTRÍNSECA DE DOS NUEVOS  
ANTIPARASITARIOS CARBOXAMIDA I (2-METILTIO-5-  
[(PIPERIDIN-1-IL)CARBONIL]-1 *H*-BENCIMIDAZOL). Y LA  
CARBOXAMIDA II (6-CLORO-2-METILTIO-5-[(PIPERIDIN-1-  
IL)CARBONIL]-1 *H*-BENCIMIDAZOL**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

**QUÍMICO FARMACEÚTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A :**

**FERNANDO SALAZAR JUÁREZ**



MÉXICO, D.F.

AÑO 2007



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 esta 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:

Presidente	Prof. Inés Fuentes Noriega
Vocal	Prof. Helgi Helen Jung Cook
Secretario	Prof. Sofía Margarita Rodríguez Alvarado
1 er suplente	Prof. Liz Jannet Medina Reyes
2 do suplente	Prof. Luis Jesús García Aguirre

Sitio donde se desarrolló el tema:

Lab. 112 y 113 Conjunto E (Biofarmacia) Facultad de Química UNAM.

---

Dra. Inés Fuentes Noriega  
Asesor

---

M. en C. Kenneth Rubio Carrasco  
Supervisor técnico

---

Fernando Salazar Juárez  
Sustentante

## AGRADECIMIENTOS

Antes que nada quiero agradecer a Dios, por permitirme culminar una más de mis metas, si no hubieras estado a mi lado, el camino hubiera sido más difícil.

A la que me abrió sus puertas, mi querida UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, en donde pude conocer un mundo diferente, y a los amigos de siempre, así como a mi segunda casa la FACULTAD DE QUIMICA, ahora sé que no las decepcione.

A la Dra. Inés Fuentes Noriega, quien más que la asesora de este trabajo fue una persona encantadora que me brindo su amistad y de quien siempre apreciaré su lindo carácter.

A la M. En C. Alicia Hernández Campos del Lab. 122, por haber proporcionado los compuestos con los que fue realizado este trabajo.

A la M. En C. Kennet Rubio Carrasco quien pacientemente supervisó mi trabajo experimental y de quien recibí gran apoyo.

A mi Mamá, Teresa Juárez quien nunca dudó de mí, y siempre me alentó a seguir adelante y no rendirme por difícil que viera las cosas, gracias Mamá todo esto te lo dedico a ti. Te quiero mucho.

## DEDICATORIAS

A mis Padres, María Teresa Juárez Castillo y Gabriel Salazar Espejel, les dedico con todo mi corazón este trabajo con el que no culmino, sino empiezo una fase más de vida.

A la Mujer de vida, mi Novia Liliana Rojas Montaña, quien a lo largo de estos años me ha apoyado en miles de formas, gracias pequeña. TE AMO.

A mis Hermanos Cecilia y Josue, quienes han sido una motivación en mi vida y mi superación, y de quienes he aprendido muchas cosas. Gracias hermanos los quiero mucho.

A mi primo Edgar López con quien viví muchos momentos inolvidables, gracias mi hermano, por todo lo que pasamos y compartimos.

A mis compañeros de la Facultad, Ernesto, Benjamín, Juan Francisco, Brenda, Edgar, Sonia, Ana, Daniel, José Manuel. (Los Britos) con quienes me divertí y compartí muchos buenos momentos.

A mis compañeros de Tesis del Laboratorio 112, con quienes hubo una muy buena convivencia y de quienes recibí gran apoyo para la realización de mi trabajo.

---

## INDICE

1.0 Introducción y objetivos	1
1.1 Introducción	1
1.2 Objetivos	2
2.0 Antecedentes	3
2.1 Teorías de la disolución (Teoría de Noyes y Whitney)	3
2.1.1 Teoría de Nernst y Brūner	4
2.2 Métodos para la determinación de la disolución intrínseca	7
2.2.1 Método de la tableta suspendida	7
2.2.2 Método del disco rotatorio	7
2.2.3 Método del disco estático	8
2.2.4 Método de Wood	8
2.2.5 Método oficial de la U. S. P 28	9
2.2.6 Método del disco estático modificado	11
2.2.7 Método del disco rotatorio modificado	13
2.3 Factores fisicoquímicos que afectan la velocidad de disolución	14
2.3.1 Forma cristalina y amorfismo	14
2.3.2 Polimorfismo	14
2.3.3 Tamaño de partícula	15
2.3.4 Estado de hidratación y solvatación	16
2.3.5 Monografía de la carboxamida I	17
2.3.6 Monografía de la carboxamida II	19
3.0 Materiales y métodos	21
3.1 Material	21

---

3.1.1 Equipos	21
3.1.2 Reactivos	22
3.1.3 Preparación de soluciones	22
3.1.4 Preparación de la curva de calibración de carboxamida I en agua	23
3.1.5 Preparación de la curva de calibración de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8	24
3.2 Metodología analítica para la determinación de carboxamida I y carboxamida II por Cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAR)	24
3.3 Validación del método analítico para cuantificar carboxamida I en agua y carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 por CLAR	25
3.3.1 Validación del sistema	25
3.3.2 Linealidad	25
3.3.3 Precisión	25
3.4 Validación del método (carboxamida I)	26
3.4.1 Linealidad del método	26
3.4.2 Exactitud	26
3.4.3 Puntos control (repetibilidad) carboxamida I y carboxamida II	26
3.4.4 Estabilidad carboxamida I y carboxamida II	27
3.5 Perfil de disolución intrínseca de carboxamida I	28
3.6 Perfil de disolución intrínseca de carboxamida II	28
4.0 Resultados	30
4.1 Validación del sistema carboxamida I	30
4.1.1 Linealidad	30
4.1.2 Precisión	32
4.2 Validación del método carboxamida I	33

---

4.2.1 Linealidad del método	33
4.2.2 Exactitud	33
4.2.3 Puntos control (repetibilidad)	36
4.2.4 Estabilidad	36
4.2.4.1 Estabilidad de la carboxamida I	36
4.3 Perfil de disolución intrínseca carboxamida I	39
4.4 Validación del método carboxamida II	41
4.4.1 Linealidad del método	41
4.4.2 Exactitud	41
4.4.3 Puntos control (repetibilidad)	44
4.4.4 Estabilidad	45
4.4.4.1 Estabilidad de la carboxamida II	45
4.5 Perfil de disolución intrínseca de carboxamida II	47
5.0 Análisis de resultados	49
5.1 Validación del sistema	49
5.2 Validación del método carboxamida I	49
5.2.1 Linealidad del método y exactitud	49
5.2.2 Puntos control (repetibilidad)	49
5.2.3 Estabilidad de la carboxamida I a temperatura ambiente	50
5.2.4 Estabilidad de la carboxamida I en refrigeración	50
5.2.5 Estabilidad de la carboxamida I en congelación	50
5.3 Perfil de disolución intrínseca de carboxamida I	51
5.4 Validación del método carboxamida II	51
5.4.1 Linealidad del método y exactitud	51
5.4.2 Puntos control (repetibilidad)	51
5.4.3 Estabilidad de la carboxamida II a temperatura ambiente	52

---

5.4.4 Estabilidad de la carboxamida II en refrigeración	52
5.4.5 Estabilidad de la carboxamida II en congelación	52
5.5 Perfil de disolución intrínseca de carboxamida II	53
6.0 Conclusiones	54
7.0 Bibliografía	55

### Índice de figuras

Figura 1. Modelo de Nernst y Brünner de la “capa estacionaria”	4
Figura 2. Forma de determinar gráficamente la constante de velocidad de disolución intrínseca	6
Figura 3. Aparato de Wood	9
Figura 4. Aparato para disolución intrínseca	10, 11
Figura 5. Sistema de disco estacionario <i>Distek</i> inc	12
Figura 6. Estructura de la carboxamida I	17
Figura 7. Estructura de la carboxamida II	19
Figura 8. Blanco de sistema carboxamida I	31
Figura 9. Carboxamida I 10 µg/mL en agua (Sistema)	32
Figura 10. Blanco de método carboxamida II	43
Figura 11. Carboxamida II 10 µg/mL en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8	44

---

## Índice de gráficas

Gráfica 1. Curva de carboxamida I en agua, 305 nm	30
Gráfica 2. Curva de carboxamida I promedio en agua, 305 nm (Día 1)	34
Gráfica 3. Curva de carboxamida I promedio en agua, 305 nm (Día 2)	35
Gráfica 4. Curva de carboxamida I promedio	40
Gráfica 5. Curva de carboxamida II promedio en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 a 305 nm (día 1)	42
Gráfica 6. Curva de carboxamida II promedio en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 a 305 nm (día 2)	44
Gráfica 7. Curva de carboxamida II promedio	48

## Índice de tablas

Tabla 1. Preparación de la curva de calibración de carboxamida I en agua	23
Tabla 2. Preparación de la curva de calibración de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8	24
Tabla 3. Linealidad del sistema (agua)	30
Tabla 4. Factor respuesta (Área/ concentración)	31
Tabla 5. Linealidad del método (Día 1) carboxamida I	33
Tabla 6. Porcentaje recuperado para la evaluación de la exactitud del método	33
Tabla 7. Linealidad del método (Día 2) carboxamida I	35
Tabla 8. Puntos control carboxamida I	36
Tabla 9. Estabilidad de carboxamida I a 7 y 15 días	37
Tabla 10. Porcentajes obtenidos carboxamida I	38

---

Tabla 11. Perfil de disolución intrínseca carboxamida I	39
Tabla 12. Linealidad del método (Día 1) carboxamida II	41
Tabla 13. Porcentaje recuperado para la evaluación de la exactitud del método	41
Tabla 14. Linealidad del método (Día 2) carboxamida II	43
Tabla 15. Puntos control carboxamida II	44
Tabla 16. Estabilidad de carboxamida II a 7 y 15 días	45
Tabla 17. Porcentajes obtenidos carboxamida II	46
Tabla 18. Perfil de disolución intrínseca carboxamida II	47

## 1.0 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

### 1.1 INTRODUCCIÓN

Cuando una molécula potencialmente útil presenta problemas de disolución (o de absorción), se deben estudiar series homólogas del compuesto que presenten mejores características al respecto, verificando nuevamente su seguridad y eficacia. Estos estudios biofarmacéuticos deben efectuarse durante las etapas iniciales de desarrollo de un fármaco<sup>1</sup>.

La velocidad de disolución intrínseca se puede definir como la velocidad de disolución de un principio activo puro bajo condiciones de área de superficie constante<sup>2</sup>.

La determinación de la velocidad de disolución intrínseca es una herramienta muy útil en el desarrollo y caracterización de nuevos fármacos y excipientes. Se sabe que la velocidad de disolución intrínseca del fármaco así como su biodisponibilidad se ven influenciadas por las propiedades del estado sólido tales como: forma cristalina, amorfismo, polimorfismo, área superficial, el grado de hidratación y el tamaño de partícula<sup>1</sup>.

El conocimiento de la velocidad de disolución intrínseca de nuevos candidatos a ser empleados como principios activos, es de suma importancia durante la selección inicial de fármacos y en el desarrollo de programas de formulación. La solubilidad y la velocidad de disolución intrínsecas de un fármaco deben ser determinadas en función del pH dentro del rango fisiológico, en medios acuosos. Esta información es esencial para el desarrollo de formas farmacéuticas que estén libres de problemas en cuanto a su biodisponibilidad. Por ejemplo, dependiendo de que tan lenta sea la velocidad de disolución intrínseca, en la formulación se

puede optar por micronizar la partícula, la formación de complejos o el uso de alguna otra técnica para poder aumentar la velocidad de disolución. La información también se utiliza mucho para improvisar en formulaciones existentes, que hayan demostrado problemas de biodisponibilidad.

Kaplan, Wood y colaboradores propusieron que la absorción de fármacos con velocidades de disolución intrínseca mayores a  $1 \text{ mg/min.cm}^2$  generalmente no presentan problemas de absorción y fármacos con velocidades de disolución intrínseca menores a  $1 \text{ mg/min.cm}^2$  generalmente presentan problemas de absorción<sup>2</sup>.

El presente trabajo pretende estudiar la velocidad de disolución intrínseca de dos nuevos compuestos derivados de los bencimidazoles (carboxamidas), a los cuales se les ha encontrado actividad antiparasitaria.

## 1.2 OBJETIVOS

- ❖ Desarrollar un método de disolución intrínseca para la evaluación de la carboxamida I (2-metiltio-5-[(piperidin-1-il)carbonil]-1 *H*-bencimidazol). Y la carboxamida II (6-cloro-metiltio-5-[(piperidin-1-il)carbonil]-1 *H*-bencimidazol)
- ❖ Obtener la constante de disolución intrínseca para ambos compuestos, y así poder predecir si dichos compuestos pueden presentar problemas de biodisponibilidad en un futuro.

---

## 2.0 ANTECEDENTES

### 2.1 Teorías de la disolución

#### Teoría de Noyes y Whitney<sup>3</sup>.

La disolución es el proceso por el cual un sólido con características de solubilidad relativamente buenas entra en solución.

En 1897 Noyes y Whitney para explicar la velocidad a la cual un sólido se disuelve en un medio líquido, proponen que la velocidad de disolución de las sustancias sólidas está determinada por la velocidad de difusión de una capa muy delgada de la solución saturada que se forma instantáneamente alrededor de la partícula sólida. La ecuación postulada fue la siguiente:

$$\frac{dC}{dt} = K (C_s - C) \quad (1)$$

Donde:

$\frac{dC}{dt}$  = Velocidad de disolución del sólido en el disolvente

$K$  = Constante de disolución

$C_s$  = Concentración de saturación (solubilidad máxima)

$C_t$  = Concentración del sólido en la solución al tiempo  $t$

Posteriormente demostraron que la velocidad de disolución es proporcional a la superficie  $S$  del sólido expuesto al disolvente y establecieron la ecuación:

$$\frac{dC}{dt} = KS (C_s - C) \quad (2)$$

Donde:

$\frac{dC}{dt}$  = Velocidad de disolución del sólido en el disolvente

$S$  = Superficie del sólido

### 2.1.1 Teoría de Nernst y Brünner<sup>4</sup>

En 1904 Nernst y Brünner proponen en su teoría que cuando un sólido se encuentra sumergido en un líquido en agitación constante, dicho líquido pasará a un lado del sólido con una velocidad dada, y asumen que existe una capa de líquido (de  $h$  espesor) que rodea a la partícula del sólido y que no se mueve, es estacionaria por lo tanto la concentración del soluto en esta capa es igual a la concentración de saturación ( $C_s$ ) y la concentración en el resto del líquido a una distancia  $h$  de la partícula sólida será  $C$ , como podemos observar en la figura 1. La ecuación propuesta fue la siguiente:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS(C_s - C)}{Vh} \quad (3)$$

Donde:

$\frac{dC}{dt}$  = Velocidad de disolución del sólido en el disolvente

$D$  = Coeficiente de difusión de la molécula del soluto

$S$  = Superficie del sólido a partir del cual se realiza la disolución

$V$  = Volumen del disolvente

$h$  = Espesor de la capa estacionaria del disolvente que rodea el sólido

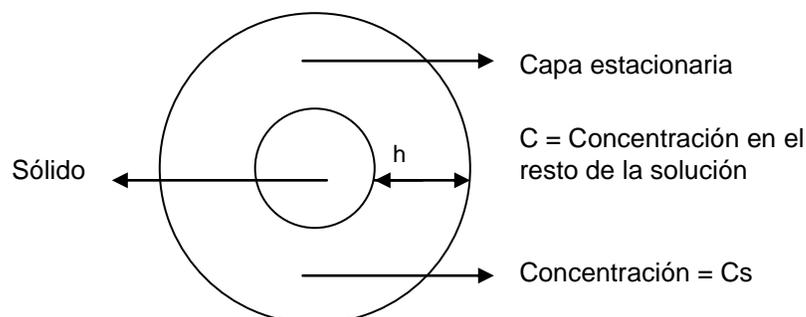


Fig. 1 Modelo de Nernst y Brünner de la "capa estacionaria"

Ellos asumen que la disolución desde la superficie del sólido se realiza más rápidamente que el transporte de moléculas disueltas hacia el seno de la disolución y que no existe movimiento del fluido adyacente a la superficie sólida. Por lo que consideran que  $C$  es muy pequeña en relación a  $C_s$ , lo cual se conoce como condición “sink” que es cuando la concentración del fármaco disuelto no es mayor del 10% de la concentración de saturación en el medio de disolución. La disolución de los fármacos “*in vivo*” se realiza conforme a un modelo semejante, debido a que por las condiciones predominantes en el tracto gastrointestinal, el fármaco va siendo absorbido a medida que se disuelve desde el líquido de disolución.

Por lo tanto, considerando que  $C \ll C_s$  la ecuación (3) se transforma en:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DSC_s}{Vh} \quad (4)$$

Y al integrar esta ecuación obtenemos:

$$C = \frac{DSC_s}{Vh} \cdot t \quad (5)$$

Si  $K = \frac{DC_s}{Vh}$

Entonces al sustituir  $K$  en la ecuación (5) se obtiene:

$$C = KSt \quad (6)$$

Esta ecuación es la de una línea recta  $y = mx + b$ , en donde  $m = KS$  y el intercepto es igual a cero. Por lo que:

$$K = \frac{m}{S}$$

En base a la ecuación (6), se puede observar que al graficar cantidad disuelta del fármaco contra tiempo, se obtendrá una línea recta, cuya pendiente dividida entre el área superficial constante será la **Constante de velocidad de disolución intrínseca**. Fig. 2

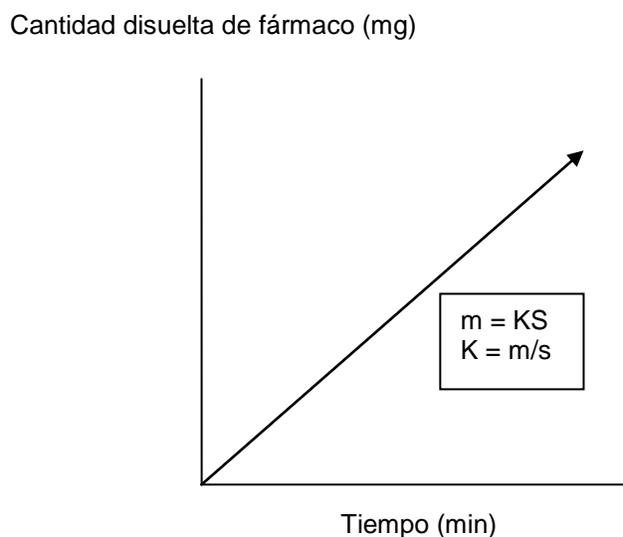


Fig.2 Forma de determinar gráficamente la constante de velocidad de disolución intrínseca.

Donde:

$K$  = Constante de velocidad de disolución intrínseca

$S$  = Área constante del fármaco comprimido

$m$  = Pendiente de la recta.

La prueba de disolución intrínseca se realiza a fármacos puros y poco solubles en el medio acuoso en vista de que el conocimiento de las características de solubilidad y/o disolución de un fármaco son factores esenciales en su evaluación inicial y desarrollo de nuevos medicamentos.

La mayoría de las técnicas empleadas para determinar la velocidad de disolución intrínseca, se realizan comprimiendo el producto puro con un punzón plano a elevadas presiones para obtener una cara plana, que es la que se somete al estudio de disolución, empleando velocidades adecuadas de agitación y bajo condiciones “sink”. De esta forma la gráfica de cantidad disuelta vs tiempo es lineal y la pendiente de dicha gráfica dividida entre el área de la tableta será la constante de disolución intrínseca<sup>18</sup>.

## **2.2 Métodos para la determinación de la disolución intrínseca.**

Diversos métodos han sido desarrollados para efectuar este tipo de estudios entre los más empleados se encuentran los siguientes:

### **2.2.1 Método de la tableta suspendida.**

Nelson E. J., diseñó una técnica conocida con el nombre de “método de la tableta suspendida”, éste fue empleado para estudiar la velocidad de disolución de ciertos compuestos sin cuantificar la cantidad disuelta. El fármaco se comprime utilizando una presión de 1000 Kg/cm<sup>2</sup>. El comprimido obtenido se monta sobre una placa de aluminio que forma parte del brazo de una balanza, la cuál registra la pérdida del peso del comprimido. Para montar el comprimido sobre la placa se emplea cera de tal manera que los bordes y una cara queden cubiertos y solamente una cara esté expuesta al líquido<sup>5</sup>.

### **2.2.2 Método del disco rotatorio.**

Éste método fue diseñado por Eino Nelson y descrito por Levy y Salí<sup>6</sup>, en el cual el fármaco se comprime utilizando una prensa hidráulica modificada, aplicando una fuerza de compresión de 50 000 Lb/in<sup>2</sup> y se fija a un soporte de acrílico, con ayuda

de parafina de tal manera que solamente una cara del comprimido queda expuesta al medio de disolución. El soporte se une a una barra de metal, la cual a su vez se conecta a un motor de agitación. La tableta fija al soporte, se sumerge en un matraz de tres bocas, conteniendo el medio de disolución a 37 °C. Dicho sistema fue modificado por Levy y Tanski<sup>7</sup> para proporcionar una mejor precisión en el control de rotación en un intervalo de 3 a 200 rpm, esta modificación es útil para determinar velocidades de disolución a bajas velocidades de agitación.

### **2.2.3 Método del disco estático.**

Este método fue descrito por Levy en 1963, es una modificación del método del disco rotatorio, en el que al igual que en el anterior, el fármaco comprimido se fija a un soporte de acrílico y se introduce en un recipiente que contiene el medio de disolución a una temperatura de 37°C, las alícuotas son retiradas a tiempos diferentes para el análisis de la cantidad disuelta. En este método no hay agitación del sistema<sup>8</sup>.

### **2.2.4 Método de Wood.**

El método de Wood, consiste en compactar con alta presión, una cantidad dada del fármaco puro, la cual se coloca en una matriz que gira a través de una flecha a determinado número de revoluciones por minuto en el medio de disolución. Durante la prueba, el comprimido debe conservarse siempre íntegro y presentar una superficie constante de contacto con el disolvente. Dicho método ha sido altamente difundido por sus características para realizar estudios de disolución intrínseca. En la Fig. 3 se observa el diseño del aparato de Wood<sup>9</sup>.

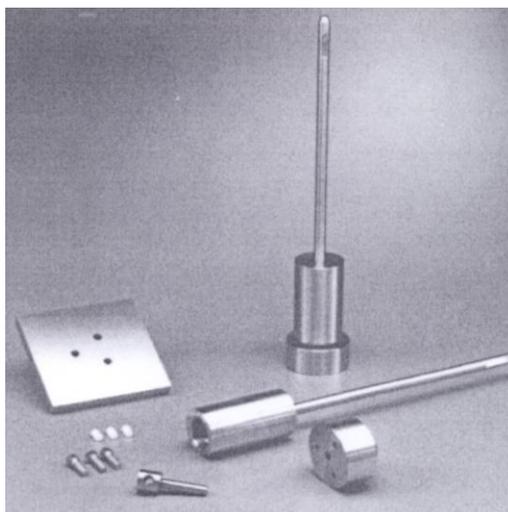


Fig. 3 Aparato de Wood.

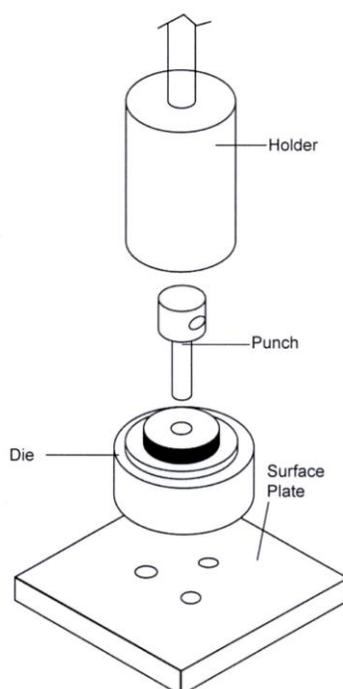
### 2.2.5 Método oficial de la USP 28<sup>10</sup>

Este método para determinar la velocidad de disolución intrínseca se encuentra descrito en el MGA <1087> de la USP 28. Este consiste como se observa en la Figura 3. de material de acero inoxidable. Este aparato fue el empleado para el presente estudio.

Aparato. La base es una placa de acero inoxidable que tiene tres orificios con rosca, en esta placa es donde se coloca la matriz para comprimir el fármaco la cual tiene un diámetro que puede ser hasta de 1.0 cm, para este caso es de 0.8 cm de diámetro, dicho dato es importante ya que con el determinamos el área superficial del fármaco para determinar la constante de velocidad de disolución intrínseca. El punzón es introducido en la matriz y de esta manera se puede comprimir el fármaco contenido en ésta, formando una tableta en el fondo de la matriz con una sola cara expuesta al medio de disolución. Entonces la parte inferior de la matriz con la tableta formada se enrosca en otra pieza que a su vez se sujeta en la flecha del disolutor. Al final de colocar las demás matrices con las tabletas formadas se sumergen en posición vertical las flechas con el motor de agitación encendido.

**Preparación de la prueba.** Pesar la cantidad del fármaco a ensayar, y vaciarlo dentro de la matriz, la cual ha sido atornillada a la base, colocar el punzón dentro de la matriz y comprimir el polvo con la ayuda de una prensa hidráulica durante 1 minuto con una fuerza de compresión necesaria para formar tabletas no desintegrantes. Separar la placa de acero inoxidable y atornillar la matriz con la boquilla superior. Retirar el polvo restante con aire o nitrógeno comprimido.

**Procedimiento.** Colocar la matriz con la boquilla y atornillar a la flecha del disolutor. Posteriormente iniciar la prueba. La superficie inferior de la matriz debe de encontrarse a una distancia de 3.8 cm del fondo del vaso. La superficie inferior de la matriz debe de estar libre de burbujas de aire, debido a que esto influye en la disolución del fármaco al no permitir el contacto con el medio de disolución. (Se puede utilizar un disco construido en forma vertical para evitar la formación de burbujas de aire). Si es posible se deben de mantener las condiciones “sink” durante la prueba.



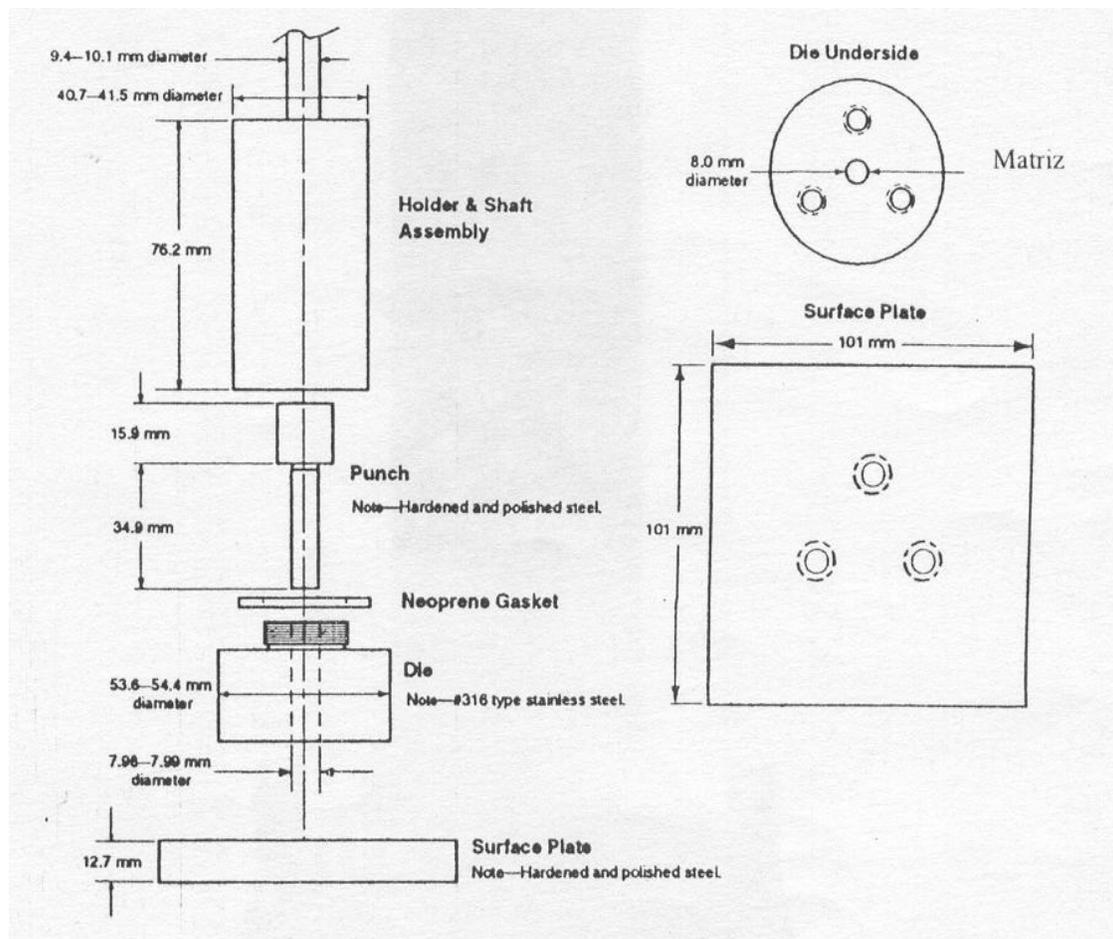


Fig. 4 Aparato para disolución intrínseca.

### 2.2.6 Método del disco estático modificado<sup>11,12</sup>.

Este método fue empleado para la caracterización de polimorfos y clorhidratos de algunos fármacos. Para el caso de GK-128<sup>12</sup>, fue empleado este método, en el cual se utilizó una fuerza de compresión de 300 kg/cm<sup>2</sup> durante 3 minutos a 1 g

de cada forma cristalina utilizando un punzón de 20 mm de diámetro, después de obtener la tableta, esta se recubrió con resina epóxica de forma que solo se tuviera una cara expuesta al medio de disolución. El disco fue colocado en el fondo del vaso con 500 mL de buffer de acetatos pH 4.0 a 20, 25, 30 y 37°C. El medio de disolución se agito a 50 rpm con paletas, a una distancia de 3 cm del fondo del vaso. Se retiraron alícuotas a diferentes intervalos de tiempo con una bomba peristáltica y se determinó la concentración en un espectrofotómetro.

En el caso de la caracterización de polimorfos y clorhidratos de carbamazepina<sup>11</sup>, el método solo varió en la velocidad de agitación que fue de 150 rpm.

Otro método empleado fue el que utilizó Viegas<sup>13</sup> T. y Brinker G. en el que fue empleado el sistema de disco estacionario *Distek* el esquema de dicho equipo puede verse en la Figura 5.

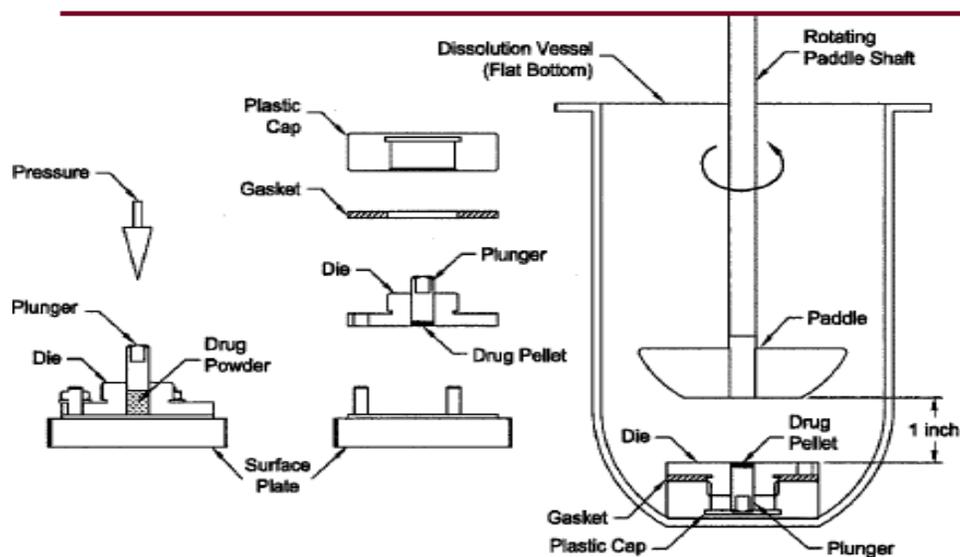


Fig. 5 Sistema de disco estacionario *Distek inc.*

El estudio consistió en una comparación de las constantes de velocidad de disolución intrínseca de lotes de diclofenaco sódico, isoniacida, dibucaina, peldesina, ibuprofeno y acetaminofen obtenidas mediante el método anteriormente

descrito y el de sistema de disco rotante de Wood a una velocidad de rotación de 50 rpm a 37 °C en 900 mL de medio de disolución, las alícuotas fueron tomadas a diversos intervalos de tiempo y analizadas por espectrofotometría de ultravioleta visible, las conclusiones fueron que el diseño de los dos equipos permite obtener resultados que no presentan diferencias significativas unos de los otros, pero los autores refieren que las ventajas que tiene el sistema estacionario *distek* sobre el sistema de disco rotante de Wood son que no se forman burbujas de aire en la matriz que puedan interferir en los resultados, y que no hay cambio en la temperatura del medio de disolución porque la matriz en el sistema *distek* se sumerge desde el principio de la prueba y con el aparato de Wood primero el medio se equilibra a la temperatura deseada y después se baja el dispositivo provocando una mínima disminución de temperatura del medio de disolución.

### **2.2.7 Método del disco rotatorio modificado.**

Dicho método modificado por Singh<sup>14</sup> y colaboradores se basa en el reportado por Wood<sup>9</sup>, fue utilizado para el desarrollo de nuevas formulaciones en el estudio de la disolución de ibuprofeno y ketoprofeno mezclado con N-metilglucamina. Las variantes al aparato de Wood fueron las dimensiones de la matriz y por lo tanto del comprimido, así como las condiciones de trabajo. El trabajo de Sing P. y sus colaboradores fue hacer un estudio de la influencia de la solubilización de micelas y factores hidrodinámicos en la disolución de fármacos usando diferentes velocidades de agitación y concentración de polisorbato 80.

Otro método muy similar empleado por Lowter N. y colaboradores<sup>15</sup> consistió en que se empleó el aparato número 1 de la USP de canastas. Se comprimó el fármaco y se pegó a la superficie inferior de este aparato dejando expuesta una sola superficie de la tableta ya que el resto se recubrió con parafina wax BP.

## 2.3 Factores fisicoquímicos que afectan la velocidad de disolución.

**2.3.1 Forma cristalina y amorfismo.** Las características de fase sólida de los fármacos, como la cristalinidad y la amorficidad, han demostrado tener una influencia significativa sobre la velocidad de disolución. Existen muchos fármacos los cuales se encuentran en ambos estados: cristalino y amorfo. De ahí, que la más alta solubilidad y la más rápida velocidad de disolución de la forma amorfa produzcan una mayor efectividad farmacológica de acuerdo a sus características de absorción, por ejemplo se ha demostrado que la forma amorfa de la novobiocina tiene una mayor solubilidad y mayor velocidad de disolución que la forma cristalina. Los estudios a nivel sanguíneo confirmaron estos datos por cuanto la administración de la forma amorfa dio como resultado una concentración 3 a 4 veces mayor que la obtenida con la administración de la forma cristalina<sup>4</sup>. En el caso de la penicilina G no puede ser utilizada en forma amorfa por vía oral, dado que es más rápidamente disuelta e inactivada en los fluidos del estómago que la forma cristalina<sup>16</sup>.

**2.3.2 Polimorfismo.** El polimorfismo es el fenómeno donde una misma sustancia puede existir en diferentes formas cristalinas, de acuerdo a las propiedades ambientales. Pero solo en una forma es estable, las otras formas tenderán eventualmente a cambiar a esa forma más estable. El cambio puede ser rápido, pero algunas veces requiere incluso de años. El polimorfo metaestable presenta usualmente la más alta solubilidad y velocidades de disolución, mientras que el polimorfo estable tiene mayor estabilidad química. Un ejemplo de la influencia del polimorfismo sobre la respuesta farmacológica lo constituye el cloranfenicol. Tres diferentes polimorfos han sido descritos, pero solamente dos polimorfos, A y B han sido investigados ampliamente, tienen puntos de fusión entre 86 y 88° C, existe una gran diferencia en la absorción y los niveles sanguíneos durante la administración de estos polimorfos, debido a que la hidrólisis intestinal del

cloranfenicol en forma palmitato es el factor esencial para la velocidad y magnitud de la absorción del ester amorfo<sup>16</sup>.

**2.3.3 Tamaño de partícula.** Cuando se disminuye el tamaño de partícula se aumenta el área superficial, a su vez aumentando el área del sólido expuesto al medio de disolución y de ahí que se incremente la velocidad de disolución y por ende la velocidad de absorción.

Estos efectos han sido empleados en la elaboración de ciertos fármacos en la forma de polvos *micronizados* (tamaño de partícula menor de 5 micras), los cuales son incorporados en diferentes formas farmacéuticas, la micronización aumenta el área de superficie expuesta al medio de disolución y por lo tanto mejora la velocidad de disolución.

Diversos investigadores han demostrado una mayor velocidad de absorción de la griseofulvina después de la micronización. Se han informado efectos similares con el cloranfenicol, las sales de tetraciclinas, la sulfadiazina etc. En el caso del cloranfenicol los estudios demostraron que los preparados que contenían partículas más pequeñas (50 a 200  $\mu\text{m}$ ) eran absorbidos más rápidamente que los preparados con partículas más grandes (400 a 800  $\mu\text{m}$ ). No obstante el simple aumento del área de superficie del fármaco no siempre garantiza un aumento equivalente de la velocidad de disolución. Más bien, es el aumento del área de superficie efectiva o el área expuesta al medio de disolución y no el área de superficie absoluta lo que es directamente proporcional a la velocidad de disolución.

Otra técnica que también produce partículas muy pequeñas pero todavía más grandes que las producidas por la solución sólida, es por medio de la dispersión del fármaco en un transportador soluble como una solución de polivinilpirrolidona

(PVP). Esta técnica es empleada a menudo para el incremento de la velocidad de disolución de drogas insolubles<sup>16</sup>.

**2.3.4 Estado de hidratación y solvatación.** Las propiedades físicas de los hidratos y solvatos difieren grandemente de la forma anhidra especialmente con respecto a la solubilidad y velocidad de disolución. Algunos fármacos que forman solvatos e hidratos son las sulfonamidas, barbitúricos, corticosteroides, derivados de xantinas, ampicilina y tetraciclina por mencionar algunos.

En el caso de la cafeína y penicilinas, los cristales anhidros tienen una mayor velocidad de disolución que los hidratos. En el caso del acetato de fluorcortisona, los solvatos de solventes orgánicos se disuelven más rápidamente que la forma no solvatada del corticosteroide<sup>16</sup>.

### 2.3.5 \*MONOGRAFÍA DE LA CARBOXAMIDA I

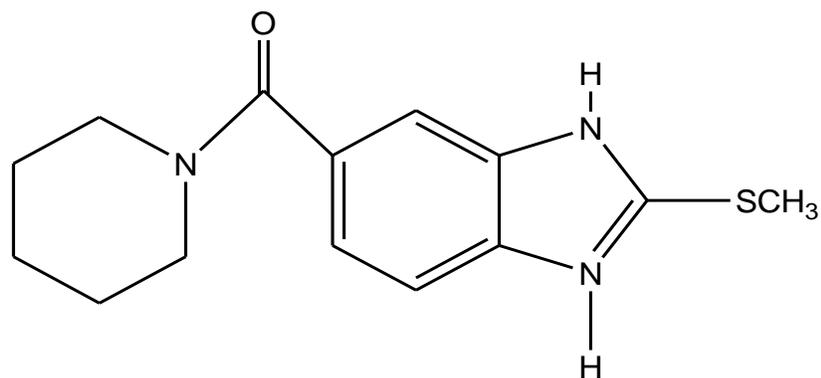


Fig.6 Estructura molecular de la carboxamida I

Nombre químico: 2 – metilto – 5 – [(piperidin – 1 –il) carbonil] – 1 H bencimidazol.

Fórmula molecular: C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>O N<sub>3</sub>S

Peso molecular: 275.37 g/mol

Pka: Pka<sub>1</sub> =4.01 ± 0.06

Pka<sub>2</sub> =10.54 ± 0.02

Descripción: polvo blanco, cristalino.

Solubilidad: soluble en acetona, etanol, metanol, muy poco soluble en agua.

## SOLUBILIDAD A TEMPERATURA AMBIENTE

MeOH	12.4 mg/mL
EtOH	44 mg/mL
H <sub>2</sub> O	0.019 mg/mL
Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4	0.028 mg/mL
HCl 0.1 M	9.2 mg/mL
ACN	8.22mg/mL

Punto de fusión: 99-100.7° C

### 2.3.6 \*MONOGRAFÍA DE LA CARBOXAMIDA II

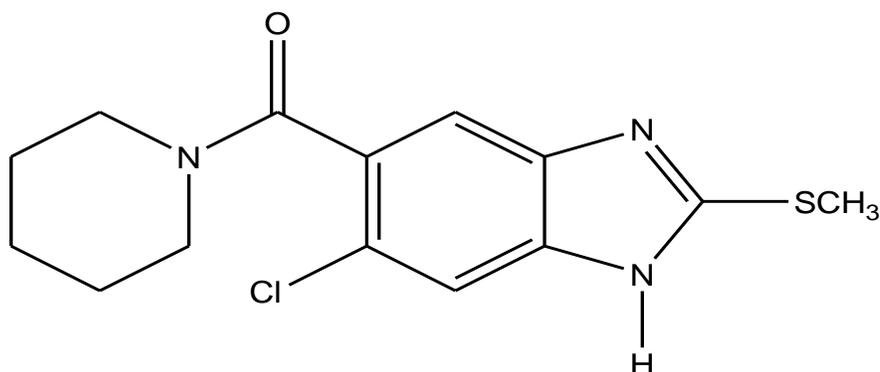


Fig. 7 Estructura molecular de la carboxamida II

Nombre químico: 6-cloro-2 - metiltio - 5 - [(piperidin - 1 -il) carbonil] - 1 H bencimidazol.

Fórmula molecular:  $C_{14}H_{17}O N_3S Cl$

Peso molecular: 309 g/mol

Pka:  $Pka_1 = 3.33 \pm 0.02$

$Pka_2 = 9.95 \pm 0.01$

Descripción: polvo blanco, cristalino.

Solubilidad: soluble en etanol, metanol, dimetil sulfóxido muy poco soluble en agua.

## SOLUBILIDAD A TEMPERATURA AMBIENTE

MeOH	27 mg/mL
EtOH	36 mg/mL
H <sub>2</sub> O	0.014 mg/mL
Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4	0.013 mg/mL
HCl 0.1 M	2.43 mg/mL
ACN	16 mg/mL
DMSO	24 mg/mL

Punto de fusión: 108-110° C

\* Referencia personal Tesis de Doctorado M. En C. Julio Rivera Leyva. Tesis de Doctorado M. en C. Alicia Hernández Campos.

### 3.0 Materiales y métodos.

#### 3.1 MATERIAL

##### 3.1.1 Equipos

- ❖ Balanza analítica Mettler modelo H54AR
- ❖ Balanza Ohaus modelo AS200
- ❖ Vortex Thermolyne modelo m37615
- ❖ Equipo para filtración de agua Millipore-Q Water Sistem No. 1058892
- ❖ Equipo para filtrar disolventes Millipore
- ❖ Sonicator Fisher-scientific FS60
- ❖ Filtros nylon 0.45 micras
- ❖ Columna Symmetry C<sub>18</sub> 4.6 x 250 mm tamaño de partícula 5 µm lote No. W32891
- ❖ Potenciómetro Orion-Research modelo 410 A+
- ❖ Cromatógrafo de líquidos marca Shimadzu
- ❖ Bomba Shimadzu, modelo LC-10ADVP
- ❖ Detector UV-Vis Shimadzu- modelo SPD-10AVP
- ❖ Integrador Shimadzu modelo SCL-10AVP
- ❖ Computadora, Compaq-presario, modelo 4102
- ❖ Software Shimadzu, Class-vp 500
- ❖ Micropipetas Eppendorf 100-1000 µL ,500-5000 µL
- ❖ Micropipeta 10-100 µL BIOHIT PLC

### 3.1.2 Reactivos

- ❖ \*Carboxamida I (2-metiltio-5-[(piperidin-1-il) carbonil]-1 *H*-bencimidazol).
- ❖ \*Carboxamida II (6-cloro-metiltio-5-[(piperidin-1-il) carbonil]-1 *H* -bencimidazol).
- ❖ Metanol HPLC Tecnolab.
- ❖ Etanol absoluto R. A. J. T Baker
- ❖ Agua grado HPLC.
- ❖ Fosfato monobásico de potasio  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . R. A. J. T Baker
- ❖ Hidróxido de sodio NaOH R. A. J. T Baker.

\* Sintetizados por el laboratorio de Química orgánica del departamento de farmacia de la Facultad de Química de la U.N.A.M. Conjunto E.

### 3.1.3 Preparación de soluciones.

1. Solución patrón de carboxamida I en etanol absoluto concentración 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Pesar con exactitud 10,0 mg de carboxamida I y transferirlos cuantitativamente a un matraz volumétrico de 10 mL, disolver y aforar con etanol absoluto.

2. Solución patrón de carboxamida II en metanol grado HPLC concentración 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Pesar con exactitud 10 mg de carboxamida II y transferirlos cuantitativamente a un matraz volumétrico de 10 mL, disolver y aforar con metanol grado HPLC.

## 3. Solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8

En un matraz volumétrico de 1000 mL, mezclar 250 mL de solución de fosfato monobásico de potasio 0.2 M con 118.25 mL de solución de hidróxido de sodio 0.2 M. Llevar a volumen con H<sub>2</sub>O destilada<sup>19</sup>.

## 4. Hidróxido de sodio 0.2 M

Pesar 2 g de hidróxido de sodio y transferir a un matraz volumétrico de 250 mL. Llevar a volumen con H<sub>2</sub>O destilada.

## 5. Fosfato monobásico de potasio 0.2 M

Pesar 27.22 g de fosfato monobásico de potasio y transferir a un matraz volumétrico de 1 L. Llevar a volumen con H<sub>2</sub>O destilada<sup>19</sup>.

**Preparación de la curva de calibración de carboxamida I .**

En la tabla 1 se muestran las alícuotas empleadas para la preparación de la curva de calibración de carboxamida I en agua.

Tabla 1. Curva de calibración de carboxamida I en agua

Concentración carboxamida I (µg/mL)	Volumen(µL) solución patrón carboxamida I de 1000 µg/mL	Volumen final de la solución (mL)
1	10	10
2	20	10
5	50	10
10	100	10
50	500	10

### 3.1.5 Preparación de la curva de calibración de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 se muestra en la tabla 2.

En la tabla 2 se muestran las alícuotas empleadas para la preparación de la curva de calibración de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8.

Tabla 2. Curva de calibración de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8

Concentración carboxamida II ( $\mu\text{g/mL}$ )	Volumen ( $\mu\text{L}$ ) solución patrón carboxamida II de 1000 $\mu\text{g/mL}$	Volumen final de la solución (mL)
1	10	10
2	20	10
5	50	10
10	100	10
25	250	10

### 3.2 Metodología analítica para la determinación de carboxamida I y carboxamida II por CLAR. (Cromatografía líquida de alta eficiencia).

El método analítico empleado fue uno que previamente había sido desarrollado y validado en nuestro laboratorio por el M. en C. Julio Rivera Leyva, para la cuantificación de carboxamida I y II. Se realizaron algunas modificaciones con el fin de optimizarlo.

Las condiciones cromatográficas empleadas en el análisis de la carboxamida I y carboxamida II se muestran a continuación:

- ❖ Columna Symmetry C<sub>18</sub> 4.6 x 250 mm tamaño de partícula 5 µm lote No. W32891
- ❖ Fase móvil Metanol: Agua (70:30)
- ❖ Velocidad de flujo: 1.0 mL/min.
- ❖ Longitud de onda: 305 nm
- ❖ Temperatura ambiente
- ❖ Volumen de inyección: 100 µL

Tiempo de retención carboxamida I = 4 min.

Tiempo de retención carboxamida II = 5 min.

### **3.3 Validación del método analítico por CLAR para cuantificar carboxamida I en agua y carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8.**

#### **3.3.1 VALIDACIÓN DEL SISTEMA**

##### **3.3.2 Linealidad.**

Se demostró la linealidad del sistema preparando dos curvas patrón en agua con al menos cinco puntos, haciendo inyecciones individuales. El coeficiente de determinación  $r^2$ , deberá ser mayor o igual a 0.98.

##### **3.3.3 Precisión.**

De los datos de linealidad del sistema, se calculó el factor respuesta de ambas curvas (área / concentración). El coeficiente de variación del factor respuesta (%CV) no debe de ser mayor al 2%.

### 3.4 VALIDACIÓN DEL MÉTODO

#### 3.4.1 Linealidad del método

En un día de trabajo se prepararon tres curvas de calibración de carboxamida I en agua (de acuerdo a la tabla 1), a partir de una misma solución stock (1000 µg/mL) y en un segundo día de trabajo se prepararon otras tres curvas de calibración. Las muestras fueron inyectadas de acuerdo a las condiciones cromatográficas de la pagina 25 en el sistema cromatográfico. Una vez obtenidos los cromatogramas se realizó un ajuste por mínimos cuadrados de la respuesta (área) contra la concentración.

La linealidad del método se evaluó considerando que el coeficiente de determinación de las tres curvas promedio preparadas en un mismo día de trabajo así como en el segundo día de trabajo, debe ser mayor a 0.98. Lo cual implica que el método es lineal en el intervalo de concentraciones empleadas.

#### 3.4.2 Exactitud

A partir de los datos con los que se evaluó la linealidad del método, se calculo el % recuperado de las tres curvas realizadas en un mismo día de trabajo, el cual debe presentar un  $C.V \leq 2.0 \%$  para cada nivel de concentración.

#### 3.4.3 Puntos control (repetibilidad)

Se prepararon las concentraciones por quintuplicado de 3, 7 y 30 µg/mL de carboxamida I en H<sub>2</sub>O y de 3, 7 y 15 µg/mL de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8, dichas muestras se analizaron

respectivamente el día de su preparación previamente con una curva de calibración realizada el mismo día de análisis, estas concentraciones deben ser

diferentes a las de la curva de calibración, pero deben incluirse en el intervalo de concentración de acuerdo con lo establecido en la NOM-177-SSA 1- 1998. Se determino el % recuperado para cada nivel de concentración. El coeficiente de variación (%CV) no debe ser mayor al 2%.

#### **3.4.4 Estabilidad.**

En la prueba de estabilidad se evaluaron las condiciones de temperatura y tiempo, en las que el compuesto permanezca estable durante su manejo, almacenamiento y procesamiento hasta su análisis.

#### **Carboxamida I**

Se preparó una solución de carboxamida I de 5 µg/mL en agua destilada, y se mantuvieron alícuotas por duplicado a temperatura ambiente, en refrigeración (8 °C) y en congelación, analizando a tiempo cero, siete y quince días con una curva patrón preparada el mismo día de análisis.

#### **Carboxamida II**

Se preparó una solución de carboxamida II de 5 µg/mL en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 y se mantuvieron alícuotas por duplicado a temperatura ambiente, en refrigeración (8 °C) y en congelación, analizando a tiempo cero, siete y quince días con una curva patrón preparada el mismo día de análisis.

Para que el compuesto de interés se considere estable su desviación absoluta deberá estar dentro del 2 % del valor nominal de la concentración.

### 3.5 Perfil de disolución intrínseca (carboxamida I)

Antes de realizar el perfil de disolución se realizaron pruebas de compactación con el aparato de Wood y la ayuda de una prensa hidráulica con albendazol ya que este compuesto presenta características similares de tamaño de partícula al de las carboxamidas, para conocer la cantidad mínima de carboxamida con la que podíamos trabajar. Se determinó que la cantidad óptima con la que podía obtenerse una tableta no desintegrante era de 150 mg, usando una presión de 2000 lb/pulg<sup>2</sup>. De acuerdo a la cantidad de materia prima con que se contaba el perfil se realizó en tres vasos del disolutor Hanson Research, bajo las siguientes condiciones:

1. Medio de disolución H<sub>2</sub>O previamente desgasificada.
2. Temperatura del medio 37°C
3. Velocidad de agitación 100 rpm
4. Volumen de medio de disolución 900 mL

Se retiraron muestras de 3 mL cada 10 min. por un periodo de una hora. Las muestras se cuantificaron siguiendo el método descrito en la pag. 24 se observó que la cantidad disuelta estaba por debajo de las concentraciones de la curva patrón, y las absorbancias eran muy bajas en este medio de disolución, por lo que se decidió correr nuevamente la prueba en un solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 como medio de disolución, previamente desgasificado, a 37 °C tomando muestras de 3 mL cada hora por un periodo de 7 hrs, dichas muestras fueron analizadas en el CLAR contra una curva de calibración por triplicado en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8

### 3.6 Perfil de disolución intrínseca (carboxamida II)

La cantidad óptima con la que se obtuvo una tableta no desintegrante fue de 150 mg, la prueba se realizó con tres vasos en el disolutor Hanson Research, las condiciones de análisis fueron:

1. Medio de disolución solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 previamente desgasificado y a 37°C
2. Velocidad de agitación 100 rpm
3. Volumen de medio de disolución 900 mL

Se tomaron muestras de 3 mL cada hora por un periodo de 7 hrs, y dichas muestras fueron cuantificadas en el HPLC.

## 4.0 Resultados

### 4.1 Validación del sistema.

#### 4.1.1 Linealidad

##### Carboxamida I

En la tabla 3 se presentan los datos para linealidad del sistema (agua).

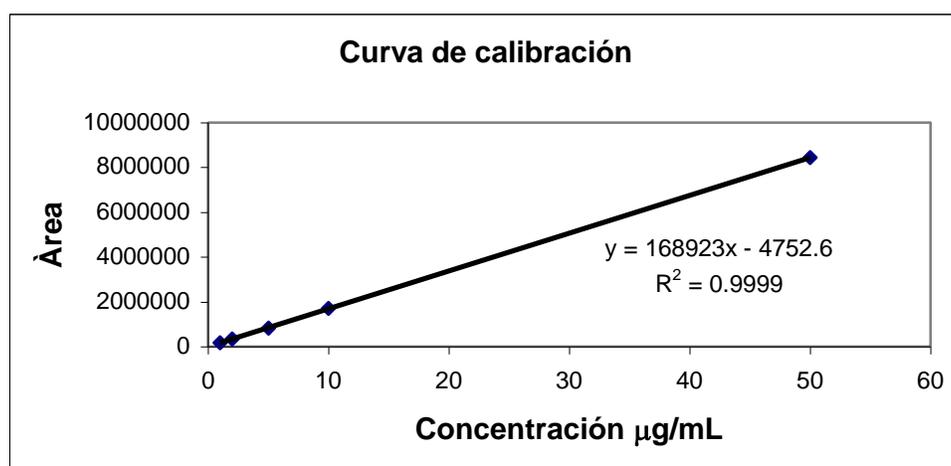
Tabla 3. Linealidad del sistema (agua)

Concentración $\mu\text{g/mL}$	Área curva A	Área curva B	Promedio
1	166908	168994	167951
2	333078	336831	334954
5	838903	815963	827433
10	1720302	1662893	1691597
50	8243796	8638346	8441071

$$b = -4752.63$$

$$m = 168923.09$$

$$r^2 = 0.9999$$



Gráfica 1. Curva de carboxamida I en agua, 305 nm

En la gráfica 1 se presenta la curva promedio de carboxamida I en agua, con la siguiente ecuación  $y = 168923x - 4752.6$ ,  $r^2 = 0.9999$

En la tabla 4 se presentan los datos de factor respuesta para evaluar la precisión del sistema

Tabla 4. Factor respuesta del sistema

Concentración Nominal (µg/mL)	Concentración (µg/mL)		Factor respuesta	
	Curva 1	Curva 2	Curva 1	Curva 2
1	1.01	1.02	1.01	1.02
2	1.99	2.02	0.99	1.01
5	4.99	4.85	0.99	0.97
10	10.2	9.87	1.02	0.98
50	48.83	51.16	0.97	1.02
			Promedio	1.0
			D.S.	0.0184
			C.V %	1.8

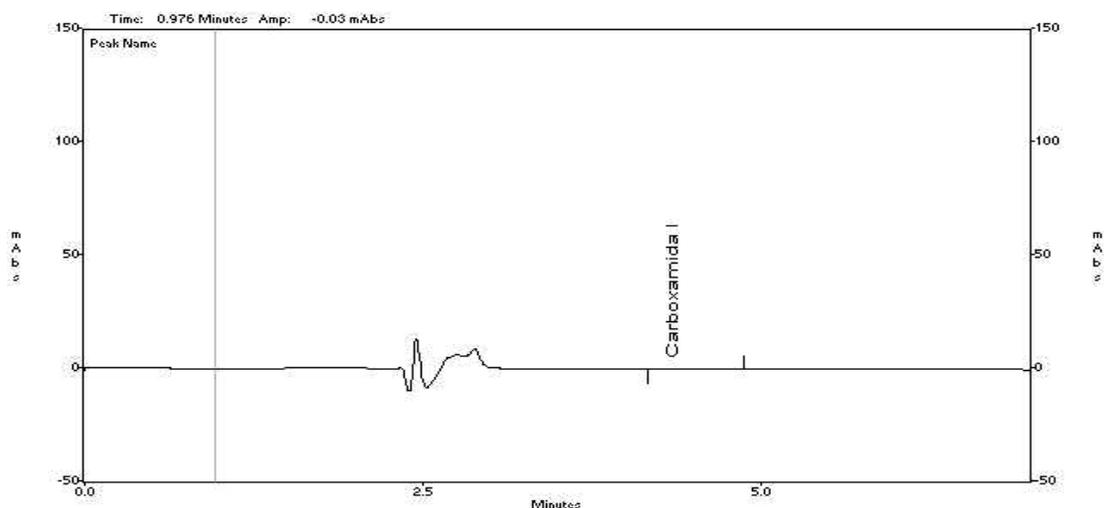


Fig. 8 Blanco de sistema Carboxamida I

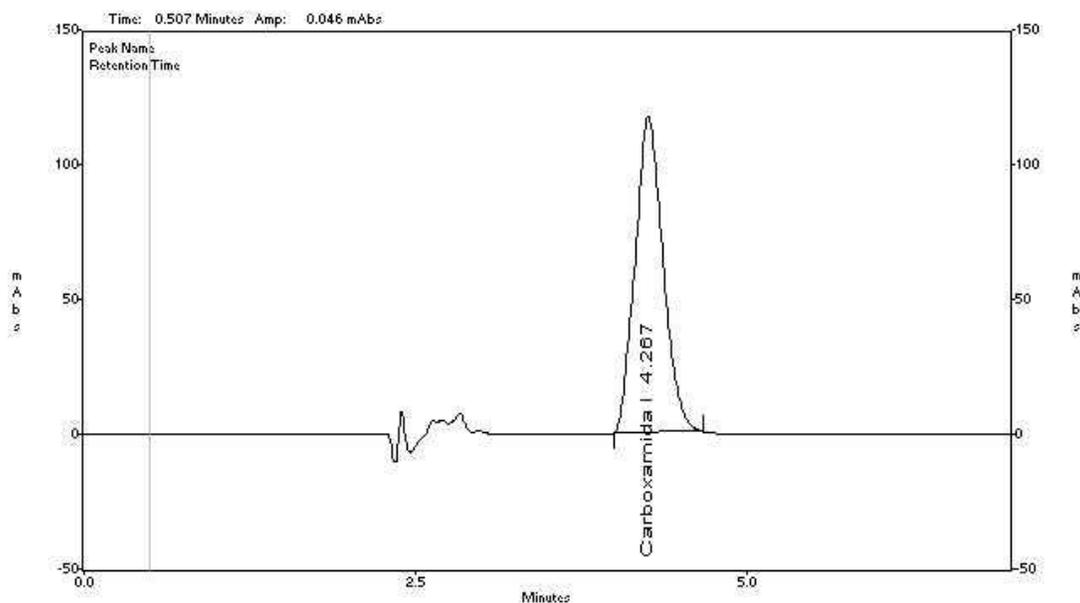


Fig. 9 Carboxamida I 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  en agua (Sistema)

#### 4.1.2 Precisión del sistema

Los datos de la tabla 4 demostraron que el coeficiente de variación del factor respuesta de los 10 datos no fue mayor al 2%, por lo que el sistema fue preciso.

## 4.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO (CARBOXAMIDA I)

### 4.2.1 Linealidad del método

La tabla 5 muestra los resultados de la linealidad del método (Día 1) para la cuantificación de carboxamida I en solución amortiguadora de fosfatos pH=6.8.

Tabla 5. Linealidad del método (día 1)

Concentración Nominal ( $\mu\text{g/mL}$ )	Área			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
1	177995	184436	183686	182039
2	351410	349834	341888	347710.6
5	852245	836328	859690	849421
10	1739040	1735784	1846640	1773821.3
50	8477114	8582158	8777959	8612410.3

$$b = 12449.43$$

$$m = 172105.22$$

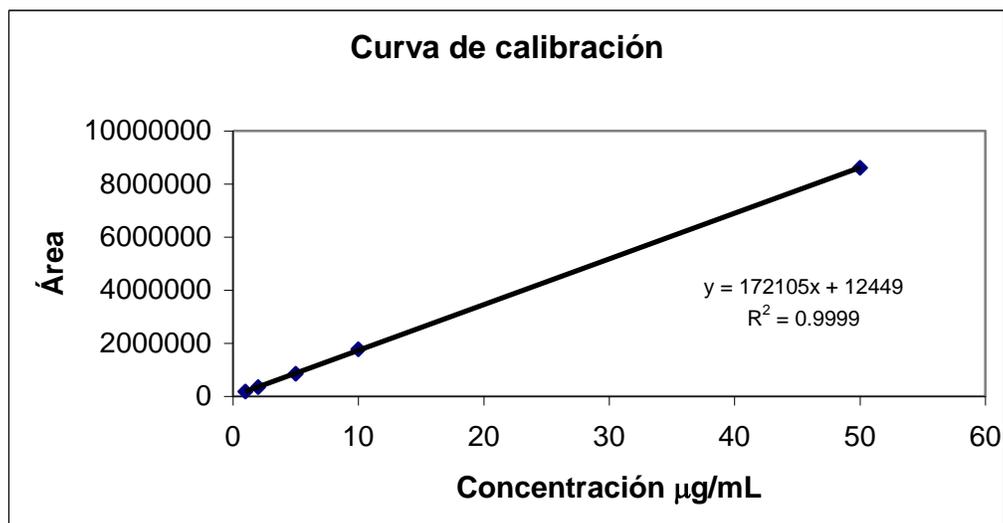
$$r^2 = 0.9999$$

### 4.2.2 Exactitud

La tabla 6 muestra los resultados de porcentaje recuperado para evaluar la exactitud del método. (Carboxamida I)

Tabla 6. Porcentaje recuperado para la evaluación de la exactitud del método

Conc. ( $\mu\text{g/mL}$ )	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Porcentaje recuperado			
				Curva 1	Curva 2	Curva 3	% C.V
1	0.96	0.99	0.99	96	99	99	1.76
2	1.97	1.96	1.91	98.5	98	95.5	1.65
5	4.88	4.79	4.86	97.6	95.8	97.2	0.97
10	10.03	10.01	10.65	100.3	100.1	106.6	3.55
50	49.18	49.79	50.93	98.36	99.58	101.86	1.77



Gráfica 2. Curva de carboxamida I promedio en solución amortiguadora de fosfatos pH=6.8 a 305 nm (Día 1)

En la gráfica 2 se presenta la curva de carboxamida I en solución amortiguadora de fosfatos pH=6.8 a 305 nm (día 1). Cuya ecuación fue  $y = 172105x + 12449$ ,  $r^2 = 0.9999$ .

La tabla 7 muestra los resultados de la linealidad del método (Día 2) para la cuantificación de carboxamida I en solución amortiguadora de fosfatos pH=6.8.

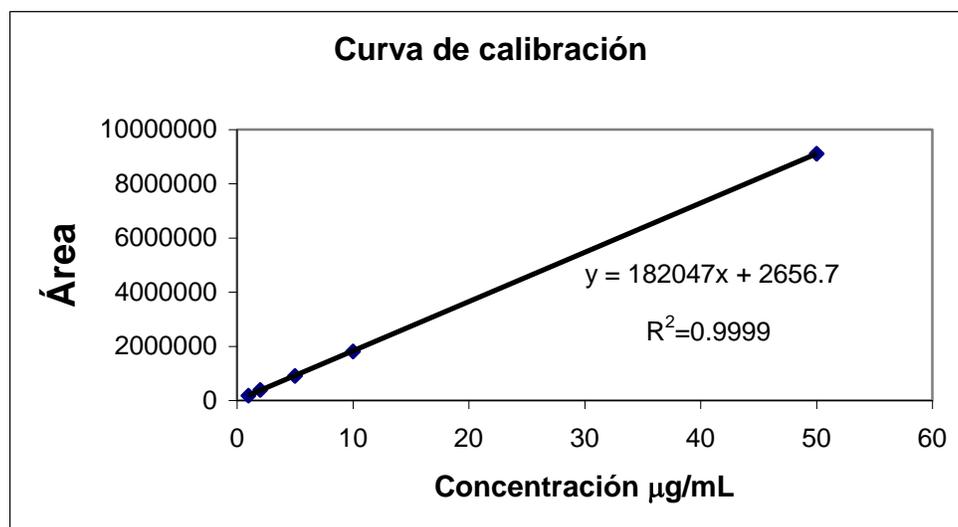
Tabla 7. Linealidad del método (día 2)

Concentración Nominal ( $\mu\text{g/mL}$ )	Área			
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio
1	174524	184031	186446	181667
2	385332	376248	388732	383437.3
5	913156	907537	900975	907222.6
10	1851755	1759592	1828283	1813210
50	9156848	8988048	9176033	9106976.3

$$b = 2656.74$$

$$m = 182047.48$$

$$r^2 = 0.9999$$



Gráfica 3. Curva de carboxamida I promedio en solución amortiguadora de fosfatos pH=6.8 a 305 nm (Día 2)

En la gráfica 3 se presenta la curva de carboxamida I en solución amortiguadora de fosfatos pH=6.8 a 305 nm (Día 2). Cuya ecuación fue  $y = 182047 x + 2656.7$ ,  $r^2 = 0.9999$ .

#### 4.2.3 Puntos control (repetibilidad)

Las concentraciones que se prepararon por quintuplicado fueron 3, 7 y 30  $\mu\text{g/mL}$  de carboxamida I en  $\text{H}_2\text{O}$ .

En la tabla 8 se muestra el porcentaje recuperado para cada una de las concentraciones bajo, medio y alto de carboxamida I en  $\text{H}_2\text{O}$ .

Tabla 8. Puntos control

Concentración carboxamida I $\mu\text{g/mL}$	% Recuperado	%C.V
Punto control bajo 3 $\mu\text{g/mL}$	110.86	1.45
Punto control medio 7 $\mu\text{g/mL}$	108.59	1.83
Punto control alto 30 $\mu\text{g/mL}$	108.44	0.96

#### 4.2.4 Estabilidad

##### 4.2.4.1 Estabilidad de la carboxamida I

En la tabla 9 se indica el porcentaje recuperado para la estabilidad de la carboxamida I a los 7 y 15 días, de los resultados anteriores se obtuvo el % CV y la desviación estándar.

Tabla 9 Estabilidad de carboxamida I a 7 y 15 días a temperatura ambiente, refrigeración y congelación

Tiempo	Replica	Temperatura ambiente	Temperatura refrigeración 8 ° C	Temperatura congelación
0 días (Tiempo inicial)	1	5.26		
	2	5.23		
	Promedio	5.245		
	D. E	0.0212		
	% C.V	<b>0.4</b>		
7 días	1	99.9	102.57	99.9
	2	99.71	103.71	101.23
	Promedio	99.8	103.14	100.56
	D. E	0.1343	0.8061	0.9404
	% C.V	<b>0.13</b>	<b>0.78</b>	<b>0.93</b>
15 días	1	94.75	85.22	98.76
	2	95.13	86.93	92.27
	Promedio	94.94	86.07	95.51
	D. E	0.2687	1.2091	4.5891
	% C.V	<b>0.28</b>	<b>1.4</b>	<b>4.8</b>

En la tabla 10 se muestran los porcentajes recuperados para la estabilidad de la carboxamida I comparándolos con el tiempo inicial.

Tabla 10. Porcentajes obtenidos

Temperatura	Tiempo	
	7 días	15 días
Ambiente	<b>99.8</b>	94.94
Refrigeración	103.14	86.07
congelación	<b>100.56</b>	95.51

Podemos ver que la muestra es estable a los 7 días tanto a temperatura ambiente como en congelación.

### 4.3 Perfil de disolución intrínseca carboxamida I

La tabla 11 muestra la cantidad disuelta (mg) al término del perfil de disolución en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8, de los tres vasos empleados, así como el cálculo de la constante de velocidad de disolución intrínseca. La determinación del área superficial de las tabletas se realizó considerando que el diámetro interno de la matriz del aparato de Wood es 0.8 cm, empleando la ecuación para determinar el área de un círculo obtuvimos:

$$A = \pi r^2$$

$$A = (3.1416) (0.4 \text{ cm})^2 = 0.5 \text{ cm}^2$$

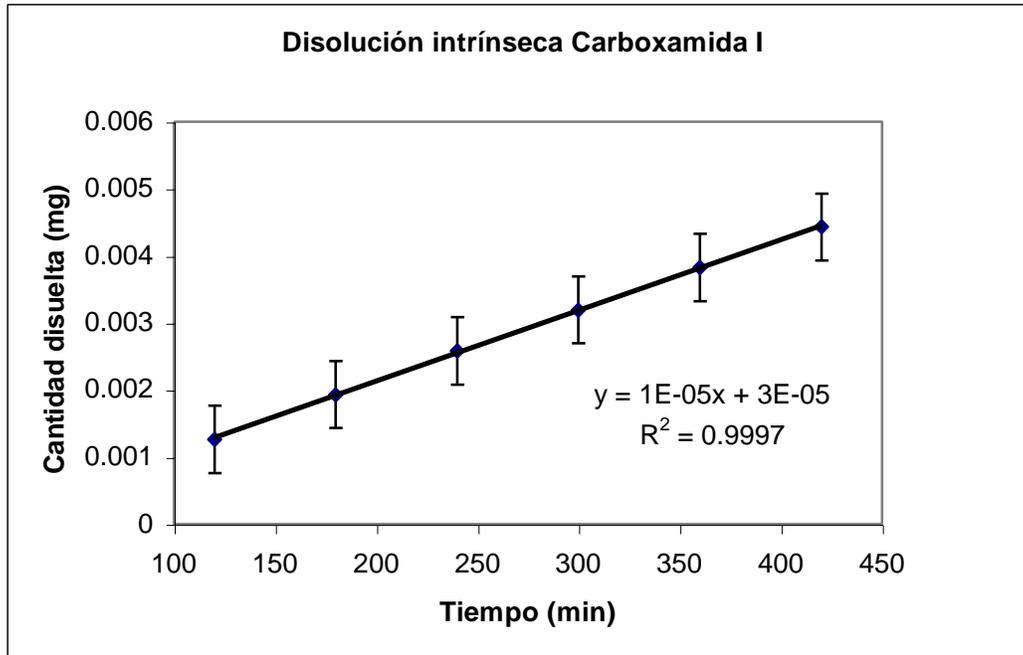
Tabla 11. Perfil de disolución intrínseca

Volumen de medio (mL)	Tiempo (min)	V 1 cant. disuelta (mg)	V 2 cant. disuelta (mg)	V 3 cant. disuelta (mg)
900	60	No cuantificable	No cuantificable	No cuantificable
897	120	0.0013	0.0012	0.0012
894	180	0.0019	0.0019	0.0019
891	240	0.0026	0.0025	0.0025
888	300	0.0032	0.0032	0.0031
885	360	0.0038	0.0038	0.0037
882	420	0.0044	0.0044	0.0043
	b	$6.38 \times 10^{-5}$	$-4.66 \times 10^{-5}$	$1.90 \times 10^{-5}$
	m	$1.04 \times 10^{-5}$	$1.06 \times 10^{-5}$	$1.02 \times 10^{-5}$
	$r^2$	0.9993	0.9992	0.9992
	K (mg/ cm <sup>2</sup> min)	$2.08 \times 10^{-5}$	$2.13 \times 10^{-5}$	$2.05 \times 10^{-5}$

Cinética de disolución de orden Cero

Constante de velocidad de disolución intrínseca

$$K = 2.09 \times 10^{-5} \text{ mg/cm}^2\text{min}$$



Gráfica 4. Curva promedio

En la gráfica 4 se presenta la curva de carboxamida I promedio en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8. Cuya ecuación fue  $y = 1 \times 10^{-5} x + 3 \times 10^{-5}$ ,  $r^2 = 0.9997$

#### 4.4 VALIDACIÓN DEL MÉTODO (CARBOXAMIDA II)

##### 4.4.1 Linealidad del método

La tabla 12 muestra los resultados de la linealidad del método (Día 1) para la cuantificación de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8.

Tabla 12. Linealidad del método (día 1)

Concentración Nominal ( $\mu\text{g/mL}$ )	Área			
	Curva 1	Curva 2	Curva 1	Curva 2
1	164768	161315	167812	164631.6
2	339265	339874	340660	339933
5	884583	863191	900412	882728.6
10	1825762	1822768	1781990	1810173.3
25	4970015	5044267	4853657	4955979.6

$$b = -91537$$

$$m = 200259$$

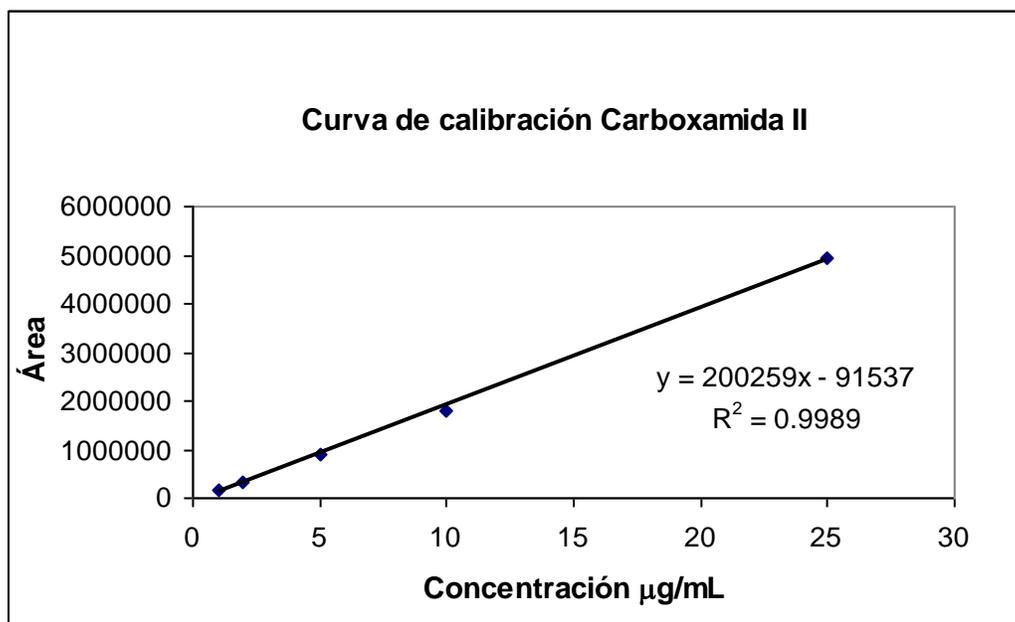
$$r^2 = 0.9989$$

##### 4.4.2 Exactitud

La tabla 13 muestra los resultados de porcentaje recuperado para evaluar la exactitud del método.

Tabla 13. Porcentaje recuperado para la evaluación de la exactitud del método

Conc. ( $\mu\text{g/mL}$ )	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Porcentaje recuperado			
				Curva 1	Curva 2	Curva 3	% C.V
1	1.27	1.26	1.29	127	126	129	1.19
2	2.15	2.15	2.15	107.5	107.5	108	0.26
5	4.87	4.76	4.95	97.4	95.6	93.6	1.98
10	9.57	9.56	9.36	95.7	95.6	93.6	1.25
25	25.27	25.64	24.69	101.08	102.56	98.76	1.9



Gráfica 5. Curva de carboxamida II promedio en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 305 nm (Día 1)

En la gráfica 5 se presenta la curva de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 a 305 nm (día 1). Cuya ecuación fue  $y = 200259x + 91537$ ,  $r^2 = 0.9989$ .

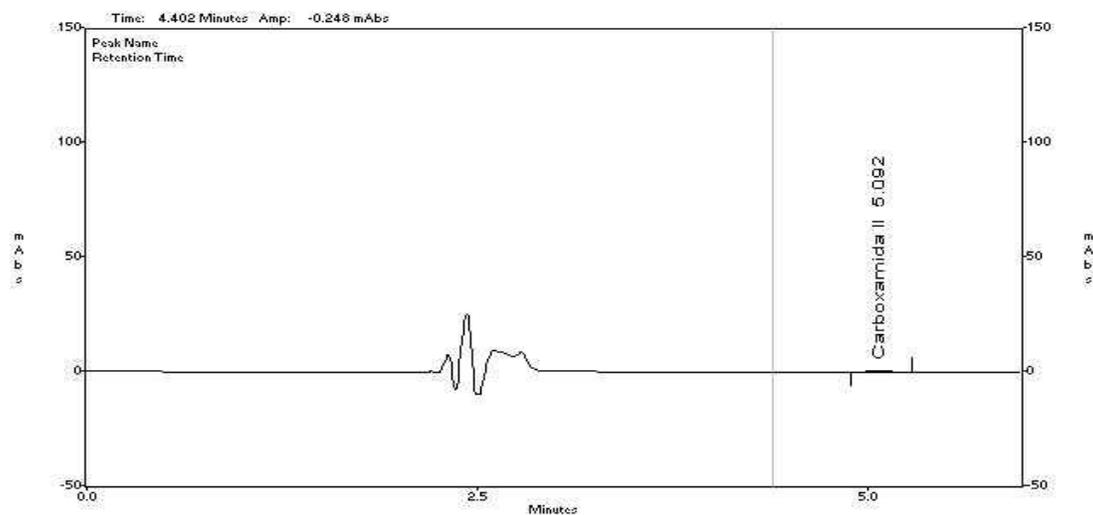


Fig. 10 Blanco de método Carboxamida II

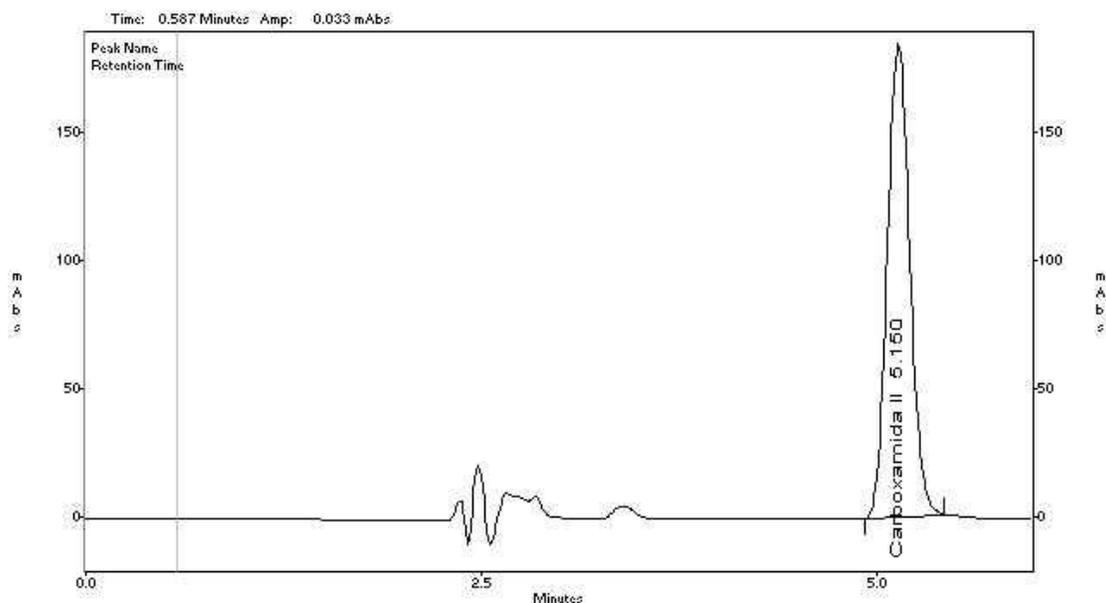


Fig. 11 Carboxamida II 10  $\mu\text{g/mL}$  en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8

La tabla 14 muestra los resultados de la linealidad del método (Día 2) para la cuantificación de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8.

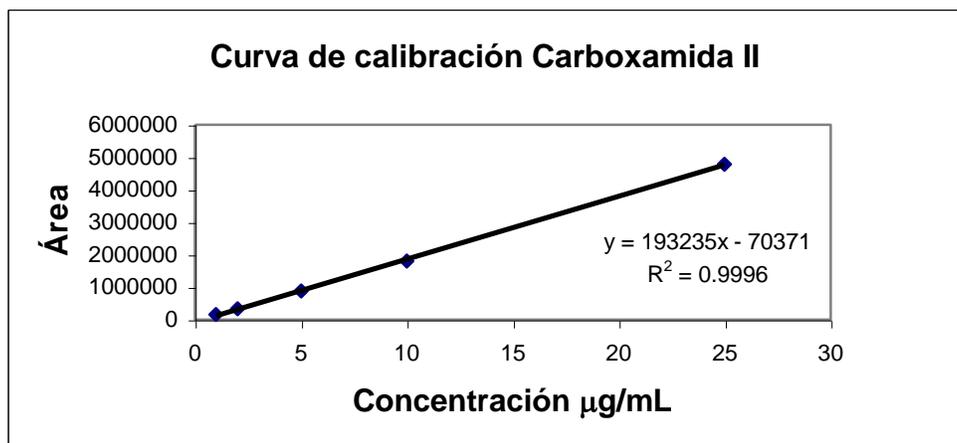
Tabla 14. Linealidad del método (día 2)

Concentración Nominal ( $\mu\text{g/mL}$ )	Área			
	Curva 1	Curva 2	Curva 1	Curva 2
1	155078	153726	158766	155856.6
2	333018	333601	330762	332460.3
5	910604	890275	854551	885143.3
10	1818653	1789302	1786984	1798313
25	4865667	4781951	4708780	4785466

$$b = -70371$$

$$m = 193235$$

$$r^2 = 0.9996$$



Grafica 6. Curva de carboxamida II promedio en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 305 nm (Día 2)

En la gráfica 6 se presenta la curva de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 a 305 nm (día 2). Cuya ecuación fue  $y = 193235x + 70371$ ,  $r^2 = 0.9996$ .

#### 4.4.3 Puntos control (repetibilidad)

Las concentraciones que se prepararon por quintuplicado fueron 3,7 y 15 µg/mL de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8.

En la tabla 15, se muestran el porcentaje recuperado para cada una de las concentraciones bajo, medio y alto de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8

Tabla 15. Puntos control

Concentración carboxamida II µg/mL	% Recuperado	%C.V
Punto control bajo 3 µg/mL	102.19	1.67
Punto control medio 7 µg/mL	101.14	1.71
Punto control alto 15 µg/mL	104.92	0.19

#### 4.4.4 Estabilidad

##### 4.4.4.1 Estabilidad de la Carboxamida II

En la tabla 16 se indican los resultados obtenidos para la estabilidad de la carboxamida II a los 7 y 15 días, de los resultados anteriores se obtuvo el % CV y la desviación estándar.

Tabla 16. Estabilidad de carboxamida II a 7 y 15 días a temperatura ambiente, refrigeración y congelación

Tiempo	Replica	Temperatura ambiente	Temperatura refrigeración 8 ° C	Temperatura congelación
0 días (Tiempo inicial)	1	4.88		
	2	4.88		
	Promedio	4.88		
	D. E	0		
	% C.V	<b>0</b>		
7 días	1	99.38	98.97	118.85
	2	98.56	99.18	101.63
	Promedio	98.97	99.07	110.24
	D. E	0.5798	0.1484	12.176
	% C.V	<b>0.58</b>	<b>0.15</b>	<b>11.04</b>
15 días	1	97.54	97.54	94.67
	2	97.74	97.33	95.69
	Promedio	97.64	97.43	95.18
	D. E	0.1414	0.1484	0.7212
	% C.V	<b>0.14</b>	<b>0.15</b>	<b>0.75</b>

En la tabla 17 se muestran los porcentajes recuperados para la estabilidad de la carboxamida II comparándolos con el tiempo inicial.

Tabla 17. Porcentajes obtenidos

	Tiempo	
Temperatura	7 días	15 días
Ambiente	<b>98.97</b>	97.64
Refrigeración	<b>99.07</b>	97.43
congelación	110.24	95.18

Como podemos ver la carboxamida II presenta estabilidad tanto a temperatura ambiente como en refrigeración a los 7 días posteriores a su preparación.

#### 4.5 Perfil de disolución intrínseca (Carboxamida II)

La tabla 18 muestra la cantidad disuelta (mg) al término del perfil de disolución en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8, de los tres vasos empleados, así como el cálculo de la constante de velocidad de disolución intrínseca. La determinación del área superficial de las tabletas se realizó considerando que el diámetro interno de la matriz del aparato de Wood es 0.8 cm, empleando la ecuación para determinar el área de un círculo obtuvimos:

$$A = \pi r^2$$

$$A = (3.1416) (0.4 \text{ cm})^2 = 0.5 \text{ cm}^2$$

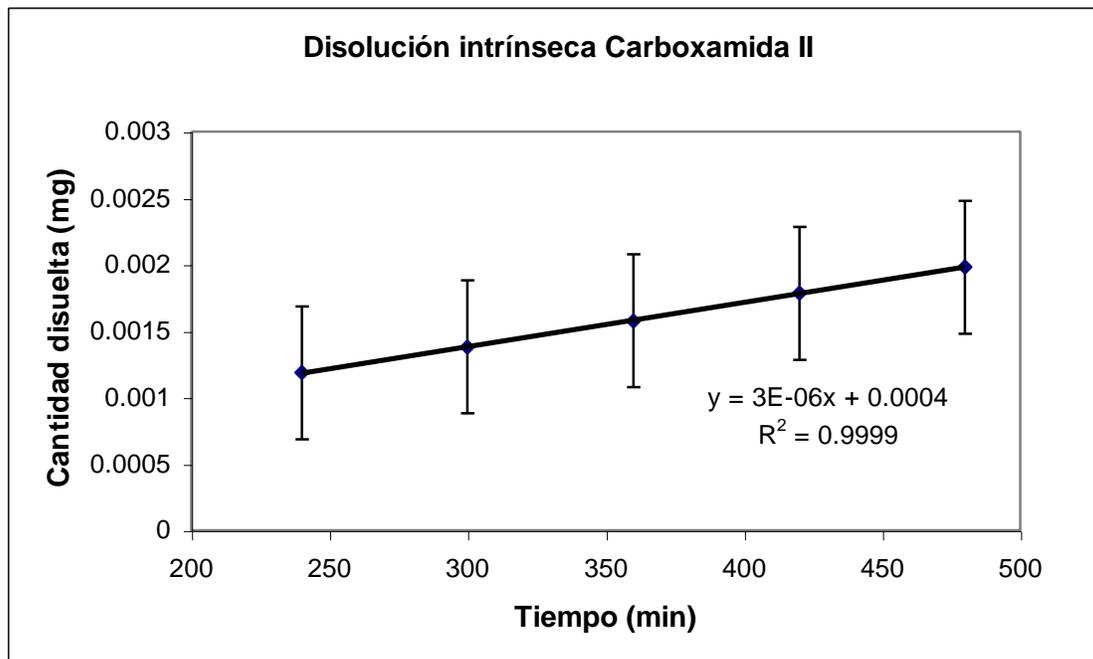
Tabla 18 perfil de disolución intrínseca

Volumen de medio (mL)	Tiempo (h)	V1 cant. disuelta (mg)	V2 cant. disuelta (mg)	V3 cant. disuelta (mg)
900	60	No cuantificable	No cuantificable	No cuantificable
897	120	No cuantificable	No cuantificable	No cuantificable
894	180	No cuantificable	No cuantificable	No cuantificable
891	240	0.00123	0.00121	0.00112
888	300	0.00143	0.00142	0.00131
885	360	0.00165	0.00158	0.00150
882	420	0.00186	0.00178	0.00171
879	480	0.00209	0.00198	0.00188
	b	$3.62 \times 10^{-4}$	$4.54 \times 10^{-4}$	$3.52 \times 10^{-4}$
	m	$3.58 \times 10^{-6}$	$3.16 \times 10^{-6}$	$3.2 \times 10^{-6}$
	r <sup>2</sup>	0.9995	0.9985	0.9992
	K	$7.16 \times 10^{-6}$ mg/cm <sup>2</sup> min	$6.33 \times 10^{-6}$ mg/cm <sup>2</sup> min	$6.40 \times 10^{-6}$ mg/cm <sup>2</sup> min

Cinética de disolución de orden Cero

Constante de velocidad de disolución intrínseca

$$K = 6.63 \times 10^{-6} \text{ mg/cm}^2\text{min}$$



Gráfica 7. Curva promedio

En la gráfica 7 se presenta la curva de carboxamida II promedio en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8. Cuya ecuación fue  $y = 3 \times 10^{-6} x + 0.0004$   $r^2 = 0.9999$ .

## 5.0 ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 5.1 VALIDACIÓN DEL SISTEMA

El sistema en agua para carboxamida I fue lineal dentro del intervalo de concentraciones establecidas de 1 a 50 µg/mL, el coeficiente de determinación lineal  $r^2$  fue mayor a 0.99 y el coeficiente de variación (%CV) del factor respuesta fue de 1.8 % por lo que cumple con el criterio de aceptación de precisión y linealidad. Establecido en La NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-177-SSA 1<sup>17</sup>.

### 5.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO. (CARBOXAMIDA I)

#### 5.2.1 Linealidad y exactitud

El método para cuantificar carboxamida I en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 fue lineal en el intervalo de concentraciones establecidas de 1 a 50 µg/mL, el coeficiente de determinación  $r^2$  fue de 0.9999. La ecuación de la curva promedio de carboxamida I en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 fue,  $y = 172105x + 12449$ , el coeficiente de variación (%CV) obtenido al evaluar la exactitud del porcentaje recuperado se encuentra por debajo del 2 % a excepción de las muestras de concentración de 10 µg/mL se estipula que no debe ser mayor al 2% no obstante los puntos control corroboran la linealidad en el intervalo de concentraciones empleadas.

#### 5.2.2 Puntos control (repetibilidad)

El porcentaje de desviación absoluta obtenido de las muestras de carboxamida I para la evaluación de los puntos control fue menor al 2 % obteniendo 1.45 % para el punto bajo, 1.83% para el punto intermedio y 0.96% para el punto control alto.

### **5.2.3 Estabilidad de la carboxamida I a temperatura ambiente**

El porcentaje de desviación absoluta obtenido de las muestras de carboxamida I para la estabilidad a 7 días (tabla 9 y 10) fue menor al 2 % por lo que se considera que las muestras de carboxamida I en agua son estables bajo estas condiciones, no obstante los resultados obtenidos a los 15 días de análisis muestran una desviación absoluta del 5.06 % del valor nominal de la concentración, por lo que a los 15 días a temperatura ambiente no es estable.

### **5.2.4 Estabilidad de la carboxamida I en refrigeración (8°C)**

El porcentaje de desviación absoluta obtenido de las muestras de carboxamida I para la estabilidad a 7 y 15 días (tabla 9 y 10) fue mayor al 2 % por lo que se considera que las muestras de carboxamida I en agua no son estables bajo estas condiciones.

### **5.2.5 Estabilidad de la carboxamida I en congelación**

El porcentaje de desviación absoluta obtenido de las muestras de carboxamida I para la estabilidad a 7 días (tabla 9 y 10) fue menor al 2 % por lo que se considera que las muestras de carboxamida I en agua son estables bajo estas condiciones, no obstante los resultados obtenidos a los 15 días de análisis muestran una desviación absoluta del 4.49 % del valor nominal de la concentración, por lo que a los 15 días en congelación no presenta estabilidad.

### 5.3 Perfil de disolución intrínseca carboxamida I

Al final de la prueba se graficó la cantidad disuelta (mg) vs el tiempo (min), se obtuvo el valor de la pendiente (m), para cada vaso y se dividió entre el área de superficie expuesta al medio de disolución ( $0.5 \text{ cm}^2$ ), para calcular la constante de velocidad de disolución intrínseca, la cual presento un valor de  $2.09 \times 10^{-5} \text{ mg/min.cm}^2$  con una D. E de  $4.04 \times 10^{-7}$ . Lo cual indica que al ser un fármaco con una constante velocidad de disolución intrínseca menor a  $1 \text{ mg/min.cm}^2$  presentará problemas de disolución y por ende la disolución será el paso limitante de la absorción de esta molécula.

### 5.4 VALIDACIÓN DEL MÉTODO (CARBOXAMIDA II)

#### 5.4.1 Linealidad y exactitud

El método para cuantificar carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 fue lineal en el intervalo de concentraciones establecidas de 1 a 25  $\mu\text{g/mL}$ . La ecuación de la curva promedio de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 fue,  $y = 200259x + 91537$  y el coeficiente de determinación  $r^2 = 0.9989$ , el coeficiente de variación (%CV) obtenido al evaluar la exactitud del porcentaje recuperado se encuentra por debajo del 2 % por lo que es exacto en el intervalo de concentraciones empleadas.

#### 5.4.2 Puntos control (repetibilidad)

El porcentaje de desviación absoluta obtenido de las muestras de carboxamida II para la evaluación de los puntos control fue menor al 2 % obteniendo 1.67 % para el punto bajo, 1.71% para el punto intermedio y 0.19% para el punto control alto.

#### **5.4.3 Estabilidad de la carboxamida II a temperatura ambiente**

El porcentaje de desviación absoluta obtenido de las muestras de carboxamida II para la estabilidad a 7 días (tabla 16 y 17) fue menor al 2 % por lo que se considera que las muestras de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 son estables bajo estas condiciones, no obstante los resultados obtenidos a los 15 días de análisis muestran una desviación absoluta del 2.36 % del valor nominal de la concentración, por lo que a los 15 días a temperatura ambiente no es estable.

#### **5.4.4 Estabilidad de la carboxamida II en refrigeración (8°C)**

El porcentaje de desviación absoluta obtenido de las muestras de carboxamida II para la estabilidad a 7 días (tabla 14) fue menor al 2 % por lo que se considera que las muestras de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 son estables bajo estas condiciones, no obstante los resultados obtenidos a los 15 días de análisis muestran una desviación absoluta del 2.57 % del valor nominal de la concentración, por lo que a los 15 días en refrigeración no es estable.

#### **5.4.5 Estabilidad de la carboxamida II en congelación**

El porcentaje de desviación absoluta obtenido de las muestras de carboxamida II para la estabilidad a 7 y 15 días (tabla 14) fue de 10.24 y 4.82 % respectivamente por lo que se considera que las muestras de carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 no son estables bajo estas condiciones.

### 5.5 Perfil de disolución intrínseca carboxamida II

Al final de la prueba se graficó la cantidad disuelta (mg) vs el tiempo (min), se obtuvo el valor de la pendiente (m), para cada vaso y se dividió entre el área de superficie expuesta al medio de disolución ( $0.5 \text{ cm}^2$ ), para calcular la constante de velocidad de disolución intrínseca, la cual presento un valor de  $6.63 \times 10^{-6} \text{ mg/cm}^2 \cdot \text{min}$  con una D. E de  $4.60 \times 10^{-7}$ . Lo cual indica que al ser un fármaco con una constante velocidad de disolución intrínseca menor a  $1 \text{ mg/min.cm}^2$  presentará problemas de disolución y por ende la disolución será el paso limitante de la absorción de esta molécula.

## 6.0 CONCLUSIONES

### Carboxamida I

El método analítico optimizado para determinar carboxamida I en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 fue lineal, preciso y exacto en un intervalo de 1 - 50  $\mu\text{g/mL}$  el factor respuesta presento un C.V del 1.8 % por lo que fue preciso en el intervalo de concentraciones empleadas (1-50  $\mu\text{g/mL}$ ), los datos que se encuentran por arriba del 2% en la evaluación de la exactitud, con el cálculo de los porcentajes recuperados, son justificados con los puntos control que presentan un C.V < 2.0 %. Es estable a los 7 días a temperatura ambiente y congelación. La constante de velocidad de disolución intrínseca obtenida fue de  $2.09 \times 10^{-5} \text{ mg/min.cm}^2$  con una D. E de  $4.04 \times 10^{-7}$ .

### Carboxamida II

El método analítico optimizado para determinar carboxamida II en solución amortiguadora de fosfatos pH = 6.8 fue lineal, preciso y exacto en un intervalo de 1 -25  $\mu\text{g/mL}$ . Los puntos control (repetibilidad) presentan un C.V < 2.0 %. Es estable a los 7 días a temperatura ambiente y refrigeración. La constante de velocidad de disolución intrínseca obtenida fue de  $6.63 \times 10^{-6} \text{ mg/cm}^2 \cdot \text{min}$  con una D. E de  $4.60 \times 10^{-7}$

Los valores obtenidos de constante de velocidad de disolución intrínseca para ambos compuestos, según Abdou<sup>2</sup>, indican que debido a su escasa solubilidad pueden presentar problemas de biodisponibilidad futuros, por lo que sería conveniente recurrir a alguna técnica para favorecer la solubilidad de dichos compuestos.

---

---

## 7.0 BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Cárdenas R.H.L, Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de los medicamentos U.A.M 1996. Pág. 47-48.
- 2.- Hamed, M. Abdou, Dissolution, Bioavailability and Bioequivalence Pennsylvania, EUA, 1989, Ed. MACK, pp 26-32, 285-287.
- 3.- Noyes, A. A Whitney W. R. J Am. Chem .Soc 19 930-934 (1897).
- 4.- Remington . Farmacía 20<sup>a</sup> Edición T-I Editorial Médica Panamericana, pp 764-765, 767-768, 776-777.
- 5.- Nelson, E. J. Am. Pharm. Assoc. Sci. 47, 297-299 (1958).
- 6.- Levy, G. Shali, B. A. J. Pharm. Sci. 51, 58-62 (1962).
- 7.- Levy, G. Tanski, W. J. Pharm. Sci. (1962).
- 8.- Levy, G. J. Pharm. Sci. 52, 1039-1046 (1963).
- 9.- Wood, J. H., Syarto J.E., Letterman H. J Pharm. Sci. 54, 1068 (1965).
- 10.- United States Pharmacopeia 28 Anexo 1 pp 2635-2636.
- 11.- Kobayasi, Y.et al. / Int. J. Pharm 193 (2000) 137-146.
- 12.- Ito, S.et.al. Int. J. Pharm 151 (1997) 133-143.
- 13.- T.X. Viegas, G. Brinker Measurement of intrinsic Drug Dissolution using Two Types of Apparatus Pharm. Tech., 25 (6), 44-53 (2001).
- 14.- Singh, S. J. et. al., J. Pharm. Sci., 57, 959-965 (1968).
- 15.- Lowter, et. al. Pharm. Research. 16 (3) 434-440 (1999).
- 16.- Fernández S. E. Biofarmacia T-I Universidad de la Habana Editorial Enpes 1997, pp 182-190.
- 17.- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM - 177 - SSA 1 – 1998. Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable.

---

---

Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.

18.- Oliva, R. O Estudios de Disolución Intrínseca : Naproxeno y Ácido Acetil Salicílico, Facultad de Química UNAM (2001)

19.-Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 8ª . Edición 2004.  
p 270

20.-QUATTROCCHI, A. Et al. Introducción a la HPLC. Aplicación y práctica. Artes gráficas Farro. Primera edición,1992, Buenos aires Argentina.302-328.

21.- Métodos analíticos Guía de validación. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos A. C. 2002.

22.- R. W. Post Introducción a la Cromatografía Líquida Práctica Perkin Elmer 1980.

23.- [www.varianinc.com/image/vimage/docs/products/dissolution/shared/om70-9022L.pdf](http://www.varianinc.com/image/vimage/docs/products/dissolution/shared/om70-9022L.pdf)

24.- [www.dissolutiontech.com](http://www.dissolutiontech.com)