

Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería



“Diseño de Estudios de Disolución de Suspensiones de Nitrofurantoína del
Mercado Nacional”

Tesis para obtener el título de:

Químico Farmacobiólogo

Presenta:

Alfredo Abrego Soto

Asesor:

M. C. María del Carmen Jauregui Romo

Tijuana, B. C.

Noviembre 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE EXTENSIÓN Y VINCULACIÓN

FOLIO No. 064

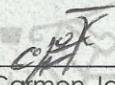
Tijuana, Baja California, a 29 de octubre de 2024

C. ALFREDO ÁBREGO SOTO
PASANTE DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO
PRESENTE:

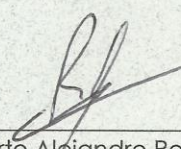
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la opción de **Tesis** es propuesto por la **M.C. María del Carmen Jauregui Romo** quien será la responsable de la calidad del trabajo que usted presente, referido al tema; **"Diseño de Estudios de Disolución de Suspensiones de Nitrofurantoína del Mercado Nacional"**, el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

RESUMEN

- I. INTRODUCCIÓN
- II. ANTECEDENTES
- III. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL
- IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
- V. CONCLUSIONES
- VI. TRABAJO A FUTURO
- VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
- VIII. APÉNDICES


M.C. María del Carmen Jauregui Romo
Directora de Tesis




M.C. Roberto Alejandro Reyes Martínez
Director

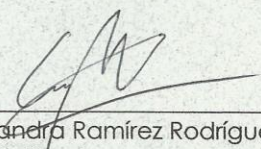

Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez
Subdirectora

Tabla de contenido

Índice de tablas	7
Índice de figuras	9
Índice de ecuaciones.....	10
I. Resumen	2
II. Introducción	4
III. Hipótesis, objetivos y metas	7
3.1. Hipótesis	7
3.2. Objetivo general	7
3.3. Objetivos específicos	7
3.4. Metas	7
IV. Antecedentes.....	9
4.1. Epidemiología de las Infecciones de vías urinarias.....	9
4.1.1. Factores predisponentes	9
4.1.2. Fisiopatología de las Infecciones de Vías Urinarias	10
4.1.3. Etiología de la enfermedad	12
4.1.4. Tratamiento de IVU's	12
4.2. Nitrofurantoína	13
4.2.1. Tamaño de cristales y biodisponibilidad de NTF	14
4.2.2. Excreción de NTF	15
4.2.3. Efectos adversos	15
4.2.4. Interacciones	16
4.3. Propiedades fisicoquímicas de la Nitrofurantoína	16
4.3.1. Nombre químico	16
4.3.2. Fórmula desarrollada.....	16
4.3.3. Fórmula condensada	16
4.3.4. Propiedades fisicoquímicas	16
4.3.5. Apariencia.....	17
4.3.6. Solubilidad	17
4.3.7. Punto de fusión.....	17

4.3.8.	pKa	17
4.4.	Medicamentos que contienen NTF como único principio activo.....	17
4.5.	Control de calidad de suspensiones	17
4.5.1.	Uniformidad de contenido	18
4.5.2.	Uniformidad de masa de las preparaciones unidosis	18
4.5.3.	Masa o volumen extraíble.....	18
4.5.4.	pH	18
4.5.5.	Calidad microbiológica de las preparaciones farmacéuticas	19
4.6.	Prueba y perfil de disolución de medicamentos	19
4.6.1.	Prueba de disolución	19
4.6.2.	Perfiles de disolución.....	20
4.6.2.1.	Diseño del estudio de disolución de suspensiones de NTF	21
4.6.3.	Aparatos empleados para la disolución de medicamentos.....	21
4.7.	Validación del sistema analítico para cuantificar muestras de perfiles de disolución	22
4.7.1.	Linealidad	22
4.7.2.	Precisión.....	22
4.8.	Comparación de perfiles de disolución.....	23
4.8.1.	Método modelo independiente.....	23
4.8.2.	Método modelo dependiente	25
4.8.3.	Criterios para la elección del mejor modelo para describir la curva de disolución de medicamentos.....	26
V.	Diseño del estudio y parte experimental.....	29
5.1.	Adquisición de medicamentos.....	29
5.2.	Control farmacéutico de medicamentos seleccionados	30
5.2.1.	Aparatos, equipos, materiales y reactivos	30
5.2.2.	Variación de volumen (suspensión oral)	31
5.2.3.	Potenciometría (suspensión oral)	31
5.2.4.	Ensayos de identidad: Espectro Infrarrojo	31
5.2.5.	Límites microbianos (suspensión oral)	32
5.2.5.1.	Medios de cultivo	32

5.2.5.2. Prueba preliminar para evaluar la neutralización de la actividad antimicrobiana	32
5.2.5.2.1. Preparación de los microorganismos control	32
5.2.5.2.2. Unidades Formadoras de Colonias (UFC)	33
5.2.5.2.3. Investigación de microorganismos objetables en suspensiones de NTF.....	33
5.2.5.2.3.1. Primera condición (aumento de volumen).....	34
5.2.5.2.3.2. Segunda condición (empleo de tween 80)	34
5.2.5.2.3.3. Tercera condición (aumento de volumen y empleo de tween 80).....	35
5.2.5.2.3.4. Cuarta condición (filtración).....	35
5.2.5.2.4. Tinción de Gram.....	35
5.2.5.2.5. Gota pendiente.....	35
5.2.5.3. Pruebas bioquímicas.....	36
5.2.5.3.1. Producción de enzimas	36
5.2.5.3.1.1. Prueba de oxidasa	36
5.2.5.3.1.2. Prueba de catalasa	37
5.2.5.3.1.3. Prueba de ureasa.....	37
5.2.5.3.2. Prueba de utilización de carbohidratos	37
5.2.5.3.2.1. Prueba de utilización de citrato	37
5.2.5.3.2.2. Oxidación-fermentación de carbohidratos.....	38
5.2.5.3.2.3. Prueba de Voges-Proskauer (V. P.) y de rojo de metilo	38
5.2.5.3.2.4. Prueba de la oxidación-fermentación de glucosa y/o lactosa.	39
5.2.5.3.3. Metabolismo de aminoácidos.....	39
5.2.5.3.3.1. Prueba de descarboxilación de aminoácidos	39
5.2.5.3.3.2. Producción de ácido sulfhídrico (H ₂ S).....	40
5.2.5.3.3.3. Prueba de indol	40
5.3. Estudios de disolución de medicamentos que contienen Nitrofurantoína	41
5.3.1. Aparato, equipo, material y reactivos.....	41
5.3.2. Preparación de Soluciones.....	42
5.3.2.1. Solución amortiguadora para calibración del potenciómetro (pH 4, 7, 10).....	42

5.3.2.2.	Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.2 M	42
5.3.2.3.	Solución de fosfato monobásico de potasio (KH ₂ PO ₄) 0.2 M.....	42
5.3.2.4.	Solución de hidróxido de potasio (KOH) 0.2M	43
5.3.2.5.	Solución de ácido fosfórico (H ₃ PO ₄) 2 M.....	43
5.3.2.6.	Solución amortiguadora (S.A) de fosfatos pH 7.2 ± 0.05 (medio de disolución)	43
5.3.3.	Desgasificación del medio de disolución o solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 ± 0.05.....	43
5.3.4.	Validación del sistema de disolución	44
5.3.4.1.	Linealidad.....	44
5.3.4.2.	Precisión	44
5.3.5.	Metodología propuesta para la obtención de perfiles de disolución de medicamentos de NTF.....	45
5.3.5.1.	Método de disolución de medicamentos de NTF	45
5.3.5.2.	Método de disolución de suspensiones, tabletas y cápsulas de NTF.....	47
VI.	Resultados.....	50
6.1.	Descripción de los medicamentos utilizados.....	50
6.2.	Pruebas de control de calidad para suspensiones de Nitrofurantoína	50
6.2.1.	Variación de volumen	50
6.2.2.	Potenciometría.....	50
6.2.3.	Ensayo de identidad	50
6.2.4.	Límites microbianos.....	50
6.3.	Validación del sistema de disolución.....	51
6.3.1.	Linealidad del sistema de disolución utilizando el espectrofotómetro HACH-DR 6000	52
6.3.2.	Linealidad del sistema de disolución utilizando el sistema de muestreo automatizado	53
6.3.3.	Precisión del sistema de disolución	54
6.3.3.1.	Reproducibilidad	54
6.4.	Perfiles de disolución de medicamentos que contienen Nitrofurantoína. .	55
6.4.1.	Perfil de disolución de suspensiones de Nitrofurantoína	25
	mg/5 mL, aparato 2, muestreo manual y velocidad de agitación de 50 rpm ..	56

6.4.2.	Perfil de disolución de cápsulas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 1, muestreo manual y velocidad de agitación de 100 rpm	57
6.4.3.	Perfil de disolución de tabletas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 1, muestreo manual y velocidad de agitación de 100 rpm	58
6.4.4.	Perfil de disolución de suspensiones de Nitrofurantoína de 25 mg/5 mL, aparato 2, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 50 rpm.....	59
6.4.5.	Perfil de disolución de cápsulas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 1, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 100 rpm	60
6.4.6.	Perfil de disolución de tabletas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 1, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 100 rpm	61
6.4.7.	Perfil de disolución de cápsulas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 2, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 75 rpm	62
6.4.8.	Perfil de disolución de tabletas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 2, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 75 rpm	63
VII.	Análisis de resultados.....	65
7.1.	Control de calidad	65
7.1.1.	Variación de volumen	65
7.1.2.	Potenciometría.....	65
7.1.3.	Ensayo de identidad de NTF	65
7.1.4.	Límites microbianos.....	66
7.2.	Validación del sistema de disolución.....	67
7.2.1.	Linealidad	67
7.2.2.	Precisión.....	67
7.3.	Estudio de perfiles de disolución	67
7.3.1.	Suspensión de nitrofurantoína.....	67
7.3.2.	Cápsulas de nitrofurantoína.....	68
7.3.3.	Tabletas de nitrofurantoína.....	68
7.4.	Caracterización de la disolución de formas farmacéuticas de NTF.....	70
7.4.1.	Caracterización de la disolución de formas farmacéuticas de NTF, modelo independiente.....	70
7.4.2.	Caracterización de la disolución de formas farmacéuticas de NTF, modelo dependiente	72

VIII.	Conclusiones.....	77
IX.	Referencias bibliográficas	79
	Anexo I:.....	90
	Anexo II:.....	91
	Anexo III:.....	98
	Anexo IV:	99
	Anexo V:	101
	Apéndice A:	103
	Apéndice B:	105
	Apéndice C:	106
	Apéndice D:	107
	Apéndice E:	108
	Apéndice F:.....	109
	Apéndice G:	111
	Apéndice H:	112
	Apéndice I:.....	113

Índice de tablas

Tabla 1: signos y síntomas de uretritis y cistitis.....	12
Tabla 2: síntomas de la pielonefritis.	12
Tabla 3: alimentos con capacidad acidificante y alcalinizante de la orina	16
Tabla 4: modelos matemáticos utilizados para describir la disolución de fármacos	27
Tabla 5: diseño del estudio de disolución.....	29
Tabla 6: información de los medicamentos	30
Tabla 7: preparación de las soluciones de concentración conocida de NTF para la curva de calibración	45
Tabla 8: preparación de las soluciones de concentración conocida de NTF para la curva de precisión	45
Tabla 9: condiciones experimentales para perfiles de disolución de medicamentos de NTF	46
Tabla 10: condiciones experimentales para perfiles de disolución de medicamentos de NTF	48
Tabla 11: crecimiento microbiano en muestras de suspensión de NTF.	52
Tabla 12: resultados pruebas bioquímicas	52
Tabla 13: linealidad del sistema de disolución de NTF	53
Tabla 14: linealidad del sistema de disolución de NTF	54
Tabla 15: reproducibilidad del sistema de disolución de NTF	56
Tabla 16: resultados de las curvas de reproducibilidad.....	56
Tabla 17: porcentaje disuelto de suspensiones de NTF de 25 mg/ 5 mL (n=12) ..	57
Tabla 18: porcentaje disuelto de cápsulas de NTF de 100 mg (n=12)	58
Tabla 19: porcentaje disuelto de tabletas de NTF de 100 mg (n=12).....	59
Tabla 20: porcentaje disuelto de suspensiones de NTF de 25 mg/ 5 mL (n=12) ..	60
Tabla 21: porcentaje disuelto de cápsulas de NTF de 100 mg (n=6)	61
Tabla 22: porcentaje disuelto de tabletas de NTF de 100 mg (n=6).....	62
Tabla 23: porcentaje disuelto de cápsulas de NTF de 100 mg (n=6)	63
Tabla 24: porcentaje disuelto de tabletas de NTF de 100 mg (n=6).....	64
Tabla 25: transmitancia de muestras de nitrofurantoína	67
Tabla 26: resultados de Q para cápsulas de NTF	69

Tabla 27: resultados de Q para tabletas de NTF.....	69
Tabla 28: resultados obtenidos de caracterizar la velocidad de disolución, métodos modelo independiente	71
Tabla 29: perfiles de disolución de las formas farmacéuticas de NTF	72
Tabla 30: comparación de suspensiones de NTF utilizando diferente tipo de muestreo	72
Tabla 31: comparación de cápsulas de NTF utilizando diferente tipo de muestreo y/o aparato	73
Tabla 32: comparación de tabletas de NTF utilizando diferente tipo de muestreo y/o aparato	73
Tabla 33: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a suspensiones, aparato 2, muestreo manual	74
Tabla 34: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a cápsulas, aparato 1, muestreo manual	74
Tabla 35: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a tabletas, aparato 1, muestreo manual.....	74
Tabla 36: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a suspensiones, aparato 2, muestreo automatizado.....	75
Tabla 37: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a cápsulas, aparato 1, muestreo automatizado	75
Tabla 38: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a tabletas, aparato 1, muestreo automatizado	75
Tabla 39: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a cápsulas, aparato 2, muestreo automatizado	76
Tabla 40: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a tabletas, aparato 2, muestreo automatizado	76

Índice de figuras

Figura1: fórmula desarrollada de la NTF	77
Figura 2: linealidad del sistema de disolución para NTF, curva A	53
Figura 3: linealidad del sistema de disolución para NTF, curva B	54
Figura 4: linealidad del sistema de disolución para NTF, curva A	55
Figura 5: linealidad del sistema de disolución para NTF, curva B	55
Figura 6: perfil de disolución de suspensiones de NTF de 25 mg/5 mL, porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.	57
Figura 7: perfil de disolución de cápsulas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.	58
Figura 8: perfil de disolución de tabletas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.	59
Figura 9: perfil de disolución de suspensiones de NTF de 25 mg/5 mL, porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.	60
Figura 10: perfil de disolución de cápsulas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.	61
Figura 11: perfil de disolución de tabletas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.	62
Figura 12: perfil de disolución de cápsulas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.	63
Figura 13: perfil de disolución de tabletas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.	64
Figura 14: perfiles de disolución de NTF contenida en 3 diferentes formas farmacéuticas, utilizando muestreo manual (M. M.) y automatizado (M. A.), porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.	70

Índice de ecuaciones

Ecuación 1: fórmula para calcular el factor de respuesta.....	24
Ecuación 2: fórmula para calcular el coeficiente de variación del factor de respuesta.....	24
Ecuación 3: fórmula para calcular el factor de la diferencia	24
Ecuación 4: fórmula para calcular el factor de similitud.....	25
Ecuación 5: porcentaje de la eficiencia de la disolución.....	25
Ecuación 6: área bajo la curva de la disolución.....	25
Ecuación 7: tiempo medio de la disolución	26
Ecuación 8: criterio de información de Akaike.....	27
Ecuación 9: suma de cuadrados de los residuales	28

Capítulo I

Resumen

I. Resumen

Las infecciones de vías urinarias (IVU's) son las enfermedades bacterianas más comunes en la edad pediátrica, afectando principalmente al sexo femenino. La nitrofurantoína (NTF) se usa como tratamiento de primera línea en IVU's, es bacteriostática para la mayor parte de los microorganismos sensibles a una concentración $\leq 32 \mu\text{g/mL}$ y es bactericida a una concentración $\geq 100 \mu\text{g/mL}$. Es uno de los medicamentos del cuadro básico nacional y se encuentra en la "Lista Modelo de Medicamentos Esenciales de la OMS". En México existen 3 formas farmacéuticas que contienen NTF como único principio activo, cápsulas de 50 y 100 mg, suspensiones de 25 mg/5 mL y tabletas de 100 mg de laboratorio Boehringer Ingelheim. Se seleccionaron cápsulas y tabletas de 100 mg y suspensiones, del mercado nacional, para la realización de los perfiles de disolución, además, de las pruebas de control de calidad para las suspensiones. Dado que en la actualidad no se cuenta con una metodología farmacopeica para la obtención de perfiles de disolución de suspensiones, se diseñó el método con base en las indicaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) decimotercera edición y la United States Pharmacopeial (USP) vigesimonovena edición para pruebas de disolución de cápsulas y tabletas. También se consideraron las especificaciones de la Food and Drug Administration (FDA) para la obtención de perfiles de disolución de suspensiones de NTF, además de agregar algunos tiempos de muestreos. Se utilizó tanto muestreo manual como automatizado para la recolección de las muestras analizadas. Los perfiles se obtuvieron con el aparato 2 (paletas) para las suspensiones a 50 rpm, mientras que el aparato 1 (canastillas) se utilizó para cápsulas y tabletas. Con el muestreo automatizado se evaluaron 12 unidades de la suspensión y 6 de cápsulas y tabletas; para cápsulas y tabletas se utilizaron los aparatos 1 y 2 a 100 y 75 rpm respectivamente, los tiempos de muestreo utilizados con ambos tipos de muestreo fueron de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 180 minutos. En el caso de las suspensiones, se incluyó otro tiempo de muestreo a los 3 minutos. En la sección de resultados de disolución se muestra que es más rápida la disolución de NTF contenida en suspensiones que la de cápsulas y tabletas. Se presenta una propuesta metodológica para la obtención de perfiles de disolución de suspensiones de NTF de utilidad en la industria farmacéutica, docencia e investigación.

Capítulo II

Introducción

II. Introducción

Las infecciones de las vías urinarias son las enfermedades bacterianas más comunes en la edad pediátrica; afecta a escolares, principalmente de sexo femenino (8%, en comparación con 2% en hombres). Casi siempre es de buen pronóstico; en el caso de los niños con infección sintomática, se observan recurrencias en 50% de ellos y en 80% de quienes padecen bacteriuria asintomática. En términos generales los niños tendrán, por lo menos, un episodio de infección de las vías urinarias en esta etapa de su vida (1).

La nitrofurantoína (NTF), es un agente antibacteriano sintético, que pertenece al grupo de los 5-nitrofuranos, que presentan actividad antibacteriana por la presencia del grupo nitro. El mecanismo de acción de los nitrofuranos radica en la toxicidad de los radicales libres generados durante su reducción. Estos agentes ejercen múltiples efectos sobre la célula bacteriana, incluyendo la inhibición del metabolismo de los carbohidratos y daño en el ácido desoxirribonucleico (ADN), lo cual parece ser la causa principal de su toxicidad bacteriana (2). Su espectro comprende la *Escherichia coli* (*E. coli*), los estafilococos y estreptococos. Su actividad es escasa frente al *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aureginosa*, *Aerobacter aerogenes*, *Alcaligenes fecalis* y corinebacterias. El tratamiento con NTF da buenos resultados en las infecciones de vías urinarias provocadas por microorganismos sensibles a nitrofurantoína (3).

La nitrofurantoína se encuentra disponible en el mercado nacional en tabletas de liberación inmediata de 100 mg (microcristales) (4), cápsulas de 50 y 100 mg (macrocristales) (5) y suspensiones orales que contienen 25 mg/5 mL (macrocristales) (6). La NTF pertenece a la lista de medicamentos esenciales de la OMS (Organización Mundial de la Salud), en la cual se incluyen los medicamentos más eficaces, seguros y menos costos para trastornos prioritarios (7), (8).

Las suspensiones orales, son formas de dosificación líquidas que constituyen una de las principales formas de administración de fármacos en pacientes pediátricos por lo que se consideran de primera elección en estos casos (9).

En la industria farmacéutica, las pruebas de disolución son una de las herramientas más importantes para el desarrollo y el control de calidad de un medicamento. No obstante, estos métodos fueron desarrollados para formas sólidas de administración oral (como cápsulas de gelatina dura, tabletas de liberación inmediata y de liberación prolongada) y poco se ha descrito para suspensiones. Un perfil de disolución puede tener un papel importante en la aprobación de medicamentos genéricos (10). En algunos casos, el perfil de disolución se solicita cuando se exenta la prueba de bioequivalencia (bioexención) y constituye una prueba de intercambiabilidad de medicamentos (11).

Los perfiles de disolución de medicamentos pueden estar descritos en los métodos farmacopéicos oficiales para la evaluación de la liberación del principio activo del producto y de su disolución o solubilización en las condiciones fisiológicas (12). También pueden ser usados para predecir el comportamiento de ciertos productos *in vivo* (10).

La NTF, se clasifica como un fármaco clase II (baja solubilidad, alta permeabilidad) según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (13). La FDA ha manifestado la importancia de considerar los estudios de disolución para otras formas farmacéuticas entre ellas las suspensiones (10).

En 1974 T. R. Bates y colaboradores estudiaron la “velocidad de disolución de formas comerciales de nitrofurantoína dependiente del pH”, utilizando soluciones amortiguadoras pH 1.12 y 7.2 a 200 rpm y con el método del “matraz agitado” a 383 nm, mostrando una disolución de alrededor del 60% a los 5 minutos y de 95% a los 10 minutos (14). La razón de este trabajo es la de proponer una modificación al método de disolución de suspensiones orales de NTF que propone la FDA, agregando tiempos de muestreo menores a los 15 minutos utilizando el aparato 2 de la USP, velocidad de rotación de 50 rpm y una solución amortiguadora de fosfatos pH de 7.2 como medio de disolución, con el fin de que se permita caracterizar dicha disolución y compararla con otras formas farmacéuticas que contengan el mismo principio activo (cápsulas y tabletas) utilizando para ello métodos modelo independiente dependiente. La metodología desarrollada en este trabajo será de utilidad tanto en el ámbito industrial como docente.

Capítulo III

Hipótesis, objetivos y metas

III. Hipótesis, objetivos y metas

3.1.Hipótesis

Hipótesis alterna: Los perfiles de disolución de nitrofurantoína suspensión será similar a la presentación en cápsulas y diferente al perfil de disolución de tabletas.

Hipótesis nula: Los perfiles de disolución de suspensión de nitrofurantoína será diferente a los perfiles de cápsulas y tabletas.

3.2.Objetivo general

Diseñar un estudio de disolución de nitrofurantoína en suspensión, con base en el marco normativo aplicable, para su posterior utilización en la obtención de perfiles de disolución de estos medicamentos en el área industrial y/o docente.

3.3.Objetivos específicos

- 3.3.1. Realizar pruebas de control farmacéutico establecidas por la farmacopea para los productos seleccionados.
- 3.3.2. Realizar la validación del sistema de disolución para nitrofurantoína.
- 3.3.3. Obtener los perfiles de disolución para suspensiones, cápsulas y tabletas comerciales que contienen nitrofurantoína.
- 3.3.4. Caracterizar la liberación de nitrofurantoína de la forma farmacéutica que la contiene, utilizando métodos modelo independiente o dependiente.
- 3.3.5. Comparar los perfiles de disolución obtenidos para formas farmacéuticas comerciales de nitrofurantoína.
- 3.3.6. Proponer una metodología para la obtención de perfiles de disolución de nitrofurantoína en suspensión.

3.4.Metas

- 3.4.1. Evaluar que las suspensiones de NTF cumplen con el control de calidad requerido a través del volumen, pH de la suspensión, ensayos de identidad y ausencia de microorganismos.
- 3.4.2. Establecer parámetros de validación de NTF, por medio de la linealidad y precisión del sistema de disolución.
- 3.4.3. Preparar los perfiles de disolución para las formas farmacéuticas de NTF, con base en las recomendaciones de la FDA y/o la FEUM.
- 3.4.4. Calcular la liberación por medio de modelos independientes (factor de similitud, eficiencia de la disolución y tiempo medio de disolución) y modelos dependientes como los modelos matemáticos que describen la disolución del fármaco.
- 3.4.5. Proponer alternativas metodológicas con el muestreo manual y automatizado, así como con los diferentes tiempos de disolución.

Capítulo IV

Antecedentes

IV. Antecedentes

4.1. Epidemiología de las Infecciones de vías urinarias

En el caso de las enfermedades infecciosas en la edad pediátrica, los valores cuantitativos del problema constituyen por si solos un motivo de estudio. A esta magnitud del problema se asocia la repercusión sobre el gasto sanitario que conlleva el tratamiento de estos procesos y las consecuencias de un uso inadecuado de determinados fármacos, como el incremento de la resistencia a antibióticos (15).

Las infecciones de vías urinarias (IVU's) se consideran las infecciones más comunes después de las respiratorias. Son dos veces más frecuentes en mujeres que en hombres. Ocurren en 1-3% de adolescentes y se incrementan con el inicio de la actividad sexual; son raras en hombres menores de 50 años y son comunes en mujeres entre los 20-50 años. Las IVU's constituyen un problema frecuente en la población pediátrica. La OMS ha estimado que la enfermedad se diagnostica en el 1% de los niños y de 3-8% de las niñas. La mayor parte de las infecciones ocurre durante los primeros años de vida. La tasa reportada de recurrencia es de 12 a 30%, con mayor probabilidad en menores de seis meses, en caso de reflujo vesicouretral grave y en aquellos con gammagrafía renal anormal al momento de la primera infección (16).

En contraste con el curso generalmente benigno en la población adulta, las IVU's en los niños, especialmente en menores de tres años, tiene mayor dificultad para el diagnóstico y mayor riesgo de complicaciones y secuelas. Se calcula que la infección urinaria ocurre en un 2.1% de las niñas y en 2.2% de los niños antes de cumplir los dos años de edad. Entre un 8 y 40% de los menores de seis años con IVU's tienen un reflujo vesicouretral; otras anomalías comunes incluyen hidronefrosis, uropatía obstructiva y doble sistema colector. De un 10 a 65% de los niños menores de dos años presentarán cicatrices renales. Estas últimas se asocian con el desarrollo de hipertensión y enfermedad renal terminal. Se ha encontrado que entre 10 y 25% de los enfermos con insuficiencia renal crónica, tienen como causa pielonefritis crónica (16).

4.1.1. Factores predisponentes

Se han identificado diferentes factores predisponentes para desarrollar IVU's dentro de los cuales se encuentran:

En la mujer:

- Edad 1 a 50 años
- Ineficiente limpieza genital

- Vida sexual
- Embarazo
- Prolapso útero-vesical

En el hombre:

- Edad superior a 50 años
- Fimosis
- Hipertrofia prostática

En general:

- Diabetes Mellitus
- Trastornos congénitos de las vías urinarias
- Reflujo vesicouretral
- Vejiga neurogénica
- Bacteriuria asintomática
- Infecciones recurrentes de vías urinarias
- Prácticas sexuales de alto riesgo
- Obstrucción intrínseca de ureteros
- Procedimientos invasivos en vías urinarias (17).

4.1.2. Fisiopatología de las Infecciones de Vías Urinarias

Las vías urinarias en condiciones normales se encuentran protegidas por diferentes mecanismos anatómicos, fisiológicos y antibacterianos. El tamaño de la uretra en niños es un factor protector, pero en las niñas es un factor de riesgo para el desarrollo de IVU's, la piel redundante del prepucio incrementa la frecuencia de IVU's en niños menores de tres meses. La urea, ácidos orgánicos, el pH ácido y los mucopolisacáridos de la pared vesical son mecanismos protectores para inhibir la multiplicación bacteriana (16).

Las IVU's se pueden clasificar de acuerdo a su anatomía en:

- Bajas (cistitis, uretritis y prostatitis).
- Altas (pielonefritis, absceso renal o perinefrítico).

IVU's bajas:

Se presenta en individuos con disuria, urgencia miccional y polaquiuria. En la tabla 1 se presentan algunos signos y síntomas de la uretritis y cistitis (17).

Tabla 1: signos y síntomas de la uretritis y cistitis.

Uretritis	Cistitis
Ardor a la micción	Nicturia
Exudado uretral mucopurulento abundante, escaso o nulo	No existe exudado uretral
Presencia, o no, de dolor suprapúbico	Tenesmo vesical
Puño percusión de los ángulos costovertebrales no dolorosa	Hematuria
	Polaquiuria
	Disuria
	Puño percusión de los ángulos costovertebrales no dolorosa

Prostatitis: episodio febril agudo con escalofríos frecuentes, dolor perineal, síndrome miccional y a veces hematuria o retención urinaria (18).

IVU's altas:

Absceso renal: fiebre elevada, dolor lumbar e hipersensibilidad en flancos; en abscesos renales de diseminación hematógena la presentación puede ser crónica con síntomas de malestar y pérdida de peso.

Absceso perinefrítico: fiebre y escalofríos, dolor abdominal y en flancos, habitualmente de varios días de duración (18).

Pielonefritis: se presenta en individuos con factores de riesgo para las IVU's con o sin síntomas de disuria, urgencia miccional y polaquiuria, y datos adicionales como los que se presentan en la tabla 2 (17):

Tabla 2: síntomas de la pielonefritis.

Hipertermia > 38.5°C	Ataque al estado general
Escalofrío	Dolor al realizar puño percusión del ángulo costovertebral del lado afectado
Dolor en región costovertebral con irradiación a fosas ilíacas y dolor ipsilateral	Cefalea
Puede presentar náusea, vómito y evacuaciones disminuidas de consistencia	

4.1.3. Etiología de la enfermedad

Los microorganismos más frecuentes que producen las IVU's son:

- *Escherichia coli* (*E. coli*)
- *Klebsiella*
- *Proteus*
- *Staphylococcus*
- *Streptococcus*
- *Pseudomonas*
- *Enterobacter*
- *Serratia marcescens*
- *Chlamydia*
- *Mycoplasma*
- *Nocardia*
- *Actinomyces*
- *Brucella*
- *Candida*
- Adenovirus (16), (17).

Las vías para la adquisición de IVU's en la edad pediátrica son hematógena y ascendente; la primera se presenta frecuentemente en recién nacidos y menores de tres meses de vida y la segunda es más frecuente en otros grupos etarios. Las IVU's se asocian con mayor frecuencia a la *E. coli* (80-90%); esta bacteria normalmente coloniza el intestino del hospedero, la piel perineal, el área periuretral y de allí asciende a la uretra y vejiga (16).

4.1.4. Tratamiento de IVU's

La selección del tratamiento para una enfermedad infecciosa se basa en el conocimiento de:

- a) Su actividad sobre el microorganismo actuante (sensibilidad),
- b) La distribución y concentraciones alcanzadas en el sitio de la infección (contacto con el microorganismo) y
- c) La inmunidad del hospedero (19).

Generalmente se seleccionan con base en el uroanálisis y el conocimiento de la epidemiología y bacteriología de la infección. Lo apropiado en este procedimiento debe ser sólo en el cultivo y pruebas de susceptibilidad en casos refractarios, recurrentes o atípicos.

- La Nitrofurantoína (NTF) se recomienda para el tratamiento de la infección no complicada del tracto inferior, así como la amoxicilina, fluoroquinolonas

(norfloxacin, ciprofloxacin u ofloxacin) o trimetoprim/sulfametoxazol (TMP/SMX) y la administración del tratamiento se recomienda por 7 días.

- Infección urinaria recurrente y pielonefritis: deben ser tratadas durante 14 días. Los pacientes clínicamente estables pueden tratarse en forma ambulatoria con fluoroquinolonas, TMP/SMX o una cefalosporina de 3ra generación.
- Prostatitis: debe tratarse con antibióticos que penetren y sigan activos en el tejido y líquidos prostáticos (fluoroquinolonas, TMP/SMX, aminoglucósidos o cefalosporinas de 3ra generación).
- Infecciones recurrentes o complicadas: fluoroquinolonas, ceftriaxona, aztreonam, ticarcilina/ácido clavulánico o imipenem/cilastatina parenteral seguida de fluoroquinolonas o TMP/SMX (18).

4.2. Nitrofurantoína

La NTF es un agente bacteriostático y bactericida para muchas bacterias grampositivas y gramnegativas (15). La NTF presenta un espectro antibacteriano para *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, enterococos y ciertas cepas de *Klebsiella* y *Enterobacter*. Organismos generalmente resistentes: *Acinetobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas* y *Serratia* (20). No se observa una resistencia cruzada entre la nitrofurantoína y otros antimicrobianos y el surgimiento de la resistencia es lento. Dado que se ha vuelto más frecuente la presencia de *E. coli* resistente a TMP/SMX y a las fluoroquinolonas, la NTF se ha convertido en un fármaco importante para el tratamiento de las infecciones urinarias no complicadas que se administra por vía oral (15).

La NTF es un tratamiento de primera línea para las IVU's, es bacteriostática para la mayor parte de los microorganismos sensibles a una concentración $\leq 32 \mu\text{g/mL}$ y es bactericida a una concentración $\geq 100 \mu\text{g/mL}$ (21). La NTF inhibe los sistemas enzimáticos bacterianos interfiriendo en el metabolismo de carbohidratos (20), las enzimas capaces de reducir la NTF, resultan cruciales para que este medicamento resulte activo. Sus metabolitos resultan altamente reactivos y son determinantes en su acción sobre el ADN (22).

La NTF presenta una absorción gastrointestinal rápida después de su ingestión. Es metabolizada y excretada tan rápidamente que no se logra una acción antibacteriana sistémica. El fármaco se metaboliza en el hígado y en la mayoría de los tejidos corporales, es excretado hacia la orina tanto por filtración glomerular como por secreción tubular, presentando una excreción renal de alrededor de un 40% inalterada y un tiempo de vida media de 18 minutos a 1 hora. Con las dosis diarias promedio se alcanzan concentraciones de $200 \mu\text{g/mL}$ en la orina. En los pacientes con insuficiencia renal, las concentraciones urinarias son insuficientes

para la acción antibacteriana, pero las concentraciones sanguíneas elevadas pueden producir toxicidad. La NTF está contraindicada en caso de insuficiencia renal importante (5), (15), (20).

La NTF se clasifica como medicamento categoría B para las mujeres embarazadas, ya que puede producir hemólisis e ictericia neonatal si se administra al final del embarazo en deficiencia de glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa (G6PD), por lo que no se recomienda el uso de este fármaco en el tercer trimestre de embarazo (20).

La NTF se excreta en leche materna en las tres horas siguientes a su administración en cantidades pequeñas, sin embargo, la Academia Americana de Pediatría considera a la NTF compatible con la lactancia materna (20).

Las dosis recomendadas para las infecciones urinarias en adultos son de 50 a 100 mg cada 6 a 8 horas o de 5 a 7 mg/kg/día en dosis divididas cuatro veces al día por 7 a 10 días, no debe de pasar de 14 días, la dosis diaria en niños es de 5 a 7 mg/kg/día, pero en algunos casos se puede administrar desde 1 mg/kg en forma prolongada (15), (21), (23), (24). El fármaco no debe utilizarse para tratar las infecciones en vías urinarias altas. La NTF puede administrarse por varios meses para suprimir las infecciones urinarias crónicas (15). Es conveniente mantener un pH urinario por debajo de 5.5, para incrementar la actividad del fármaco por lo que se recomienda ingerirla con alimentos, además de que mejora la tolerancia gástrica (15), (25), (26).

4.2.1. Tamaño de cristales y biodisponibilidad de NTF

La velocidad de disolución, la biodisponibilidad en humanos y la incidencia de reacciones adversas de la NTF se ve afectada significativamente por el tamaño de partícula (14), (27), (28). Se ha demostrado que el uso de cápsulas con macrocristales (Macroantina) produce menos efectos adversos que la administración de tabletas con microcristales (Furadantina), esto se debe al tamaño de partícula por los macrocristales (~ 273.5 μm), a diferencia de los microcristales (~ 6.7 μm) (29), (30).

La NTF es un medicamento cuya biodisponibilidad y propiedades terapéuticas se verán afectadas por la variación de la formulación; las tabletas de NTF que tienen microcristales presentan una biodisponibilidad relativa del 85%, mientras que las cápsulas y suspensiones elaboradas con macrocristales de NTF presentan una biodisponibilidad del 55% (30), (31). La reducción de la biodisponibilidad relativa de la NTF es probable que también se deba a una degradación enzimática en el estómago y a la velocidad de vaciamiento gástrico (32), (33).

La biodisponibilidad de la suspensión oral se puede optimizar mediante la selección de los tamaños de partículas de fármaco apropiadas, sitio de absorción óptima, densidades y viscosidades de partículas de vehículos (34).

La NTF muestra un incremento de la biodisponibilidad y se ve mejorada la tolerancia gástrica del medicamento cuando se administra con alimentos (disminuye la náusea y vómito) (25), (30).

4.2.2. Excreción de NTF

La NTF se excreta por vía renal y el grado de excreción dependerá del pH urinario (25). La NTF es estable a pH ácido (entre 4 y 6). Cuando las muestras urinarias presentan pH básico la cantidad cuantificada es menor a causa de la inestabilidad de los nitrofuranos a este pH (30).

Los medicamentos que modifican la excreción renal de los fármacos son aquellos que modifican el pH de la orina. La orina puede alcalinizarse, pasando de pH de 5.5 a valores de hasta 7.5 con la ingesta de ciertos alimentos, como los que se muestran en la tabla 3. Este cambio de pH provoca un aumento en la eliminación de fármacos ácidos y una disminución de la eliminación de los básicos (25), (26).

Tabla 3: *alimentos con capacidad acidificante y alcalinizante de la orina.*

Alimentos acidificantes	Carnes rojas, aves, pescado, marisco y huevos Queso Cereales y derivados Frutos secos (avellanas, cacahuates) Maíz y lentejas Ciruelas y arándanos
Alimentos alcalinizantes	Leche Frutas (excepto ciruela y arándanos) Legumbres (excepto lentejas) Zumos Frutos secos (almendras, castañas, coco)

4.2.3. Efectos adversos

La anorexia, náuseas y vómitos son los principales efectos secundarios de la nitrofurantoína. Las neuropatías y la anemia hemolítica se presentan en caso de deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. La nitrofurantoína antagoniza la acción del ácido nalidíxico. Se ha reportado exantema, infiltración y fibrosis pulmonar y otras reacciones de hipersensibilidad (15).

4.2.4. Interacciones

- Anticolinérgicos: aumentan la biodisponibilidad de nitrofurantoína.
- Antiácidos con triclicato de magnesio: disminuye absorción de nitrofurantoína. No se deben administrar juntos.
- Probenecid, sulfonpirazona: aumenta o disminuye niveles de NTF por lo que se recomienda vigilar toxicidad o disminución de actividad antibacteriana.

Contraindicaciones: en disfunción renal, embarazo a término (38-42 semanas), durante el parto o trabajo de parto, en insuficiencia renal moderada a severa, anuria, oliguria o depuración de creatinina < 60 mL/minuto, infantes <1 mes (posible desarrollo de anemia hemolítica) (20).

4.3. Propiedades fisicoquímicas de la Nitrofurantoína

4.3.1. Nombre químico

El nombre químico de la nitrofurantoína es:

1-[5-nitrofurfuriliden] hidantoína.

1-[[[5-nitro-2-furanil] metilen] amino]-2,4-imidazolidindiona (35), (36), (37), (38).

No. de CAS: 67-20-9 (35), (38).

4.3.2. Fórmula desarrollada

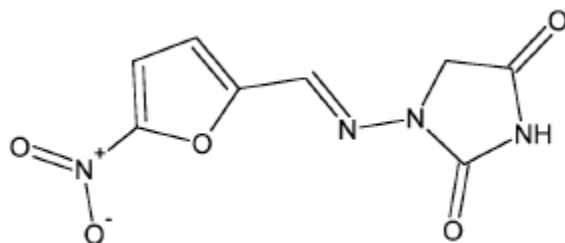


Figura 1: fórmula desarrollada de la NTF

4.3.3. Fórmula condensada

C₈H₆N₄O₅ (anhidra), peso molecular 238.16 g/mol (35), (38).

C₈H₆N₄O₅ H₂O, peso molecular 256.17 g/mol (30).

4.3.4. Propiedades fisicoquímicas

La nitrofurantoína es anhidra o puede contener una molécula de agua de hidratación (35). La nitrofurantoína y sus soluciones se decoloran por álcalis y por la exposición a la luz. Se descomponen en contacto con metales, excepto con acero inoxidable y con aluminio (35), (38). Las precauciones y medidas de seguridad se mencionan en el anexo I.

4.3.5. Apariencia

Polvo cristalino de color amarillo (35), (38).

4.3.6. Solubilidad

Soluble en dimetilformamida (50 mg/mL), muy ligeramente soluble en agua (0.19 mg/mL) y etanol (0.51 mg/mL), también soluble en acetona (5.1 mg/mL), glicerol (0.6 mg/mL) y polietilenglicol (15 mg/mL) (35), (38).

4.3.7. Punto de fusión

270-272 °C (38).

4.3.8. pKa

7.2 (36), (39).

4.4. Medicamentos que contienen NTF como único principio activo

La NTF se clasifica como un principio activo de clase II dentro del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, siendo éste un medicamento de solubilidad baja y permeabilidad alta (13), (40). Los medicamentos de clase II presentan perfiles de disolución claramente definidos y reproducibles. Su absorción es la que se observa lenta por lo que a veces es necesario hacer estudios de bioequivalencia (41).

La NTF se comercializa en el mercado nacional mexicano en tres formas farmacéuticas, las cuales son: tabletas de liberación inmediata de 100 mg (microcristales), caja con 40 (4), (42), cápsulas de 50 y 100 mg (macrocristales), caja con 40 (5), (43) y suspensión infantil de 25 mg/5 mL (macrocristales), frasco de 120 mL (6). Desarrollada por el laboratorio Boehringer Ingelheim. Es considerado como un medicamento clase IV según la Ley General de Salud que para su venta requiere de receta médica (44).

4.5. Control de calidad de suspensiones

En los laboratorios farmacéuticos se llevan a cabo una serie de controles que sirven para verificar que el proceso de elaboración de las diferentes formulaciones se está desarrollando correctamente. De esta manera, el aspecto general del preparado en cuanto a color, olor, turbidez, presencia de partículas en suspensión, etc., es un recurso muy útil para verificar subjetivamente el proceso. También es frecuente determinar en los reactores de producción o en los depósitos de almacenamiento la evolución del pH de la formulación o su densidad. Una vez terminado el proceso de fabricación es necesario llevar a cabo los ensayos para garantizar la calidad del producto final. Para ello, el departamento de Control de Calidad realiza ensayos específicos desarrollados por el propio laboratorio y ensayos obligatorios con base en la normatividad correspondiente, como las pruebas farmacopeicas establecidas en la FEUM (45).

Las pruebas que se deben de realizar tanto en el granel de la suspensión, después de homogeneizar, como en el producto final están destinadas a la evaluación del aspecto, concentración del principio activo y la uniformidad de peso/volumen dosificado (46).

Se deben evaluar el aspecto del envase y de la formulación para detectar defectos en el acondicionamiento tanto primario como secundario, partículas en suspensión, etc. La viscosidad también aporta mucha información sobre el estado de la formulación, especialmente en preparados con cierta consistencia. Es necesario verificar también el pH de la formulación, puesto que, es un parámetro crítico en la estabilidad de la formulación. Este tipo de formulaciones también se lleva a cabo un análisis cuali y cuantitativo de los colorantes, de los conservadores y del fármaco. La farmacopea indica, además, que es obligatorio que se satisfagan los ensayos de: uniformidad de contenido, uniformidad de masa de las preparaciones unidosis, masa o volumen extraíble, pH y calidad microbiana de las preparaciones farmacéuticas (45).

4.5.1. Uniformidad de contenido

Las preparaciones unidosis, que son suspensiones, satisfacen el siguiente ensayo. Se seleccionan al azar 10 unidades, se vacían y se valora su contenido individual por un método analítico adecuado, determinándose el valor medio (45).

4.5.2. Uniformidad de masa de las preparaciones unidosis

Este ensayo es obligatorio sólo para formulaciones tipo solución o emulsión. Para ello se pesa individualmente el contenido de 20 envases, una vez vaciados tanto como sea posible y se determina la masa media. Como máximo dos de las masas individuales se desvían más del 10% de la masa media y ninguna se desvía más del 20% (45).

4.5.3. Masa o volumen extraíble

Las preparaciones líquidas para uso oral suministradas en envases unidosis han de satisfacer el ensayo. Para ello se vacía lo más completamente posible el contenido en un envase y se determina la masa o el volumen del contenido. El ensayo no es inferior a la declarada en la etiqueta (45).

4.5.4. pH

Se debe de controlar el pH de los diferentes agentes que participan en la formulación de la suspensión y de las dos fases de las que consta, antes y después de la mezcla. Esta se mide con la ayuda de un potenciómetro y soluciones amortiguadoras para calibrar el mismo (45).

4.5.5. Calidad microbiológica de las preparaciones farmacéuticas

Las preparaciones farmacéuticas se presentan en general como no estériles. Sin embargo, no deben presentar ningún peligro para el paciente, ni riesgo de modificación de la calidad de la preparación, en las condiciones normales de conservación y de empleo. Es entonces necesario, en el control de rutina, determinar la flora bacteriana o fúngica presente en esos casos productos después de la preparación. Pero ese control no es interpretable y no puede garantizar la calidad más que en la medida en que se haya probado la eficacia de los productos químicos de conservación o las propiedades antimicrobianas de la preparación farmacéutica misma. Es la razón por la que la mayoría de las farmacopeas proponen una monografía de referencia que se debe aplicar para determinar la eficacia antimicrobiana de los agentes de conservación. Esta determinación es igualmente necesaria para permitir utilizar productos que se administran en dosis múltiples y que pueden recibir, durante un periodo de utilización una contaminación cruzada exógena (47).

Las especificaciones que deben cumplir son las siguientes:

- La muestra no contiene más de 100 UFC/mL de organismos mesofilicos aerobios.
- No contiene más de 10 UFC/mL de hongos filamentosos y levaduras
- Ausencia de *Salmonella*.
- Ausencia de *E. coli*.
- Libre de patógenos (45), (48).

4.6. Prueba y perfil de disolución de medicamentos

4.6.1. Prueba de disolución

La prueba de velocidad de disolución aparente, también denominada “de disolución”, es un método para medir la liberación de un principio activo, a partir de la forma de dosificación que lo contiene y la disolución de éste en el medio de prueba. La toma de muestra se realiza dentro de los tiempos establecidos por la monografía del medicamento (dos o más tiempos de muestreo) (49).

La prueba de disolución se desarrolló en principio para cuantificar la cantidad disuelta de un fármaco en un tiempo dado y el alcance de la liberación de formas farmacéuticas solidas orales como las tabletas de liberación inmediata, las de liberación prolongada y las cápsulas (12). La prueba de disolución es ampliamente utilizada para el desarrollo de formulaciones, en el seguimiento del proceso de fabricación y como una prueba de control de calidad. También se puede utilizar para predecir el comportamiento *in vivo* de ciertos productos (10).

Las pruebas de disolución son de bajo costo, prediciendo diferencias de cantidad de absorción y biodisponibilidad de formulaciones de tabletas y cápsulas del mismo fármaco. Varios métodos se emplean para la medición de la disolución de formas de dosificación sólidas comunes. Para que un fármaco sea absorbido, la forma de dosificación sólida que lo contiene debe desintegrarse, desagregarse y después el fármaco deberá disolverse. En las suspensiones, la disolución es el paso limitante para la absorción y la biodisponibilidad (50).

El enfoque principal de la prueba de disolución está en el área del control de calidad y del desarrollo del producto, con el fin de obtener y utilizar la información sobre la composición y las variables de manufactura, ejemplo fuerza de compresión, selección de excipientes y efectos del mezclado (51).

Las diferencias en los enfoques de control de calidad e investigación y desarrollo plantean la interrogante sobre cuál será el medio de disolución más adecuado para la obtención de perfiles. Los medios de disolución típicos enumerados en la FEUM son: ácido clorhídrico diluido, soluciones amortiguadoras en el rango fisiológico de pH de 1,2, 4,5, 6,8 a 7,5, fluido gástrico simulado (con o sin enzimas), agua, soluciones con tensioactivos tales como polisorbato 80 y lauril sulfato de sodio. El agua también puede constituir un medio de disolución, la FEUM y la FDA recomiendan utilizar soluciones reguladoras fisiológicas con un pH de 7.2 (10), (12).

4.6.2. Perfiles de disolución

El proceso de absorción de un fármaco administrado por vía oral depende, entre otras cosas, de la liberación del principio activo y de su disolución en condiciones fisiológicas (12), (52). Las formas farmacéuticas orales suelen emplearse con el objetivo de lograr efectos sistémicos gracias a la absorción del fármaco a través de los distintos epitelios y mucosas del tubo gastrointestinal; el pH puede influir en la ionización de los fármacos, los cambios de pH que tienen lugar en el aparato digestivo, varían de 1.2 en el estómago hasta aproximadamente 7 u 8 en el intestino grueso y es importante porque influye tanto en la cantidad absorbida como para favorecer o limitar el lugar donde se absorbe el fármaco (53).

Debido a la naturaleza de estos factores, la evaluación de la velocidad de disolución *in vitro* puede ser de utilidad para la predicción del comportamiento *in vivo*, siempre y cuando el paso limitante para la absorción sea la disolución (52), como es el caso de la NTF.

Para caracterizar la liberación de un fármaco de la forma de dosificación que lo contiene, se debe generar un perfil de liberación del fármaco en el que los valores de liberación (disolución) se determinan como una función del tiempo (54).

La NOM-177-SSA1-2013 establece las condiciones para obtención de perfiles de disolución, según lo establecido en la FEUM y sus suplementos vigentes; sin embargo, cuando la información requerida no aparezca en ella, se puede recurrir a farmacopeas de otros países, guías para la industria de la FDA, OMS, EMA (por sus siglas en inglés *European Medicines Agency*) o artículos científicos (55). La FDA publica una lista de sus métodos de disolución recomendados en la página: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/> (10), (54).

4.6.2.1. *Diseño del estudio de disolución de suspensiones de NTF*

En general, el método de paleta giratoria utilizando un medio de disolución acuoso es el método recomendado para las pruebas de disolución de suspensiones. Para obtener muestras representativas, la preparación del producto debe seguir un procedimiento normalizado basado en la agitación o mezcla. La técnica de introducción de la muestra debe ser exacta, precisa y reproducible. A pesar de que las suspensiones orales de cualquier viscosidad estarían expuestas a rangos similares de fuerzas de cizallamiento después de la administración *in vivo*, se debe seleccionar la velocidad de agitación *in vitro* para facilitar la discriminación entre los lotes con diferentes propiedades de liberación (54).

Para las suspensiones de baja viscosidad, una dosis exacta puede ser colocada en la parte inferior del recipiente del disolutor. Para suspensiones menos viscosas se recomienda una velocidad de agitación lenta, generalmente de 25 rpm. Para las de alta viscosidad, como es el caso de la suspensión de NTF, la dosis puede ser determinada por el peso de muestra transferido con precisión en el vaso del disolutor. Las suspensiones de alta viscosidad pueden requerir una velocidad de agitación más rápida, 50 o 75 rpm para evitar amontonamiento de la muestra en la parte inferior del recipiente (10), (54).

4.6.3. *Aparatos empleados para la disolución de medicamentos*

Existen dos tipos de aparatos para realizar la disolución de medicamentos cuya diferencia radica en el mecanismo de agitación, estos son el de canastillas (aparato 1) y el de paletas (aparato 2). Las condiciones de trabajo (medio de disolución, tipo de aparato, velocidad de agitación y tiempo de muestreo) se indican en la monografía respectiva (49), (56).

Aparato 1: consta de un vaso cilíndrico de vidrio o de otro material inerte y transparente, de fondo esférico con capacidad para 1000 mL, con una tapa que debe estar ajustada para retardar la evaporación y que permita la inserción de un termómetro, así como la toma de la muestra. El vaso, firmemente ajustado, debe estar parcialmente sumergido en un baño de agua y con un movimiento constante que mantenga la temperatura del medio de disolución a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$. El eje transmisor mide de 6.3 a 6.5 mm de diámetro, debe ser de acero inoxidable y girar

suavemente sin bamboleo. Debe estar colocado en el centro del vaso. El regulador de velocidad de rotación debe mantener la velocidad constante de acuerdo a lo indicado para cada producto de prueba (generalmente entre 25 y 150 rpm) y con una variación de $\pm 4\%$. La canastilla consta de dos partes; la parte superior está unida al eje transmisor del movimiento y es de acero, generalmente de malla # 40. La distancia entre el fondo del vaso y la canastilla debe mantenerse constante a 25 ± 2 mm durante la prueba (49), (56).

Aparato 2: el vaso, el baño de agua, el regulador de velocidad y el eje transmisor siguen las mismas especificaciones que para el aparato 1. La hélice agitadora es una paleta de 4 ± 1 mm de espesor y de 19 ± 0.5 mm de alto en forma de sección de un círculo de radio de 41.5 ± 1 mm. Durante la prueba se debe mantener una distancia de 25 ± 2 mm entre la cuchilla y el fondo del vaso (49), (56).

4.7. Validación del sistema analítico para cuantificar muestras de perfiles de disolución

La validación de un sistema de disolución es el proceso que establece mediante estudios en laboratorio, que las características de desempeño del método cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas (57). En la NOM-177-SSA1-2013, el método analítico que se emplea se debe de validar por medio de los criterios de linealidad y precisión (55).

4.7.1. Linealidad

La linealidad de un sistema de disolución es su capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestra en un intervalo dado (57). Esta se realiza con al menos 5 puntos de concentración conocida (excepto el cero) por duplicado, y debe presentar un coeficiente de regresión ($r \geq 0.99$); y un error relativo debido a la regresión no mayor que el 2% (55).

4.7.2. Precisión

La precisión de un sistema de disolución es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el método repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. La precisión puede ser una medida del grado de reproducibilidad o de repetibilidad del sistema de disolución en condiciones normales de operación (57).

La repetibilidad se refiere a la utilización del procedimiento analítico en un laboratorio durante un periodo de tiempo corto realizado por el mismo analista con el mismo equipo (57). La repetibilidad se evalúa con los datos de linealidad del

sistema, calculando el porcentaje del coeficiente de variación (% CV) del factor de respuesta (FR) el cual debe ser $\leq 2\%$ (55).

$$FR = \frac{ABS}{Concentración}$$

Ecuación 1: fórmula para calcular el factor de respuesta.

Donde:

FR: Factor de respuesta.

ABS: Absorbancia de las soluciones estándar analizadas.

Concentración: Concentración de las soluciones estándar.

$$\% CV = \frac{D.E.}{\bar{X}} \times 100$$

Ecuación 2: fórmula para calcular el coeficiente de variación del factor de respuesta.

Donde:

% CV: Porcentaje del coeficiente de variación.

D. E.: Desviación estándar de los datos del factor de respuesta.

$\bar{X}$: Promedio de los datos del factor de respuesta.

La reproducibilidad se refiere al uso del procedimiento analítico en diferentes laboratorios, días, analistas, etc. (57). Debe analizarse una muestra homogénea del producto, al menos por triplicado para probar cada condición. El % CV no debe ser mayor del 3% (55).

4.8.Comparación de perfiles de disolución

La comparación de perfiles de disolución se puede llevar a cabo empleando métodos modelo independiente o modelo dependiente (11).

4.8.1. Método modelo independiente

Para comparar los perfiles de disolución realizados se pueden utilizar métodos modelo independiente como: el factor de diferencia (f_1) y el factor de similitud (f_2). El factor de diferencia (f_1) calcula la diferencia porcentual entre dos curvas en cada punto temporal y es una medida de error relativo entre dos curvas; con relación al factor f_1 valores de 0-15 aseguran una menor diferencia entre dos productos (57), (58), (59).

$$f_1 = \left\{ \frac{[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|]}{[\sum_{t=1}^n R_t]} \right\} \times 100$$

Ecuación 3: fórmula para calcular el factor de la diferencia.

Donde:

R_t : Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de referencia.

T_t : Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de prueba.

n : Número de tiempos de muestreo.

El factor de similitud (f_2), el más utilizado actualmente, es una transformación de raíz cuadrada recíproca logarítmica de la suma del error cuadrado y es una medición de la similitud en la disolución porcentual entre las dos curvas; valores de f_2 de 50-100 garantizan la similitud de dos productos (11), (55), (57), (59).

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

Ecuación 4: fórmula para calcular el factor de similitud.

Donde:

R_t : Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de referencia.

T_t : Porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de prueba.

n : Número de tiempos de muestreo.

Otros parámetros utilizados son: el tiempo necesario en disolverse un porcentaje del fármaco ($t_{x\%}$) por ejemplo $t_{20\%}$, $t_{50\%}$, $t_{80\%}$; el tiempo de muestreo el cual corresponde a la cantidad disuelta de fármaco en un tiempo determinado ($t_{30\min}$, $t_{60\min}$, $t_{90\min}$), usado frecuentemente por las farmacopeas para una prueba de disolución. El área bajo la curva de disolución (ABC) o el porcentaje de la eficiencia de la disolución (% EF) que se calculan con las siguientes formulas (60), (61), (62), (63), (64).

$$\% EF = \frac{ABC_0^T}{(Q_{100}) (T)} \times 100\%$$

Ecuación 5: porcentaje de la eficiencia de la disolución.

Donde:

ABC_0^T : Área bajo la curva de disolución desde 0 hasta el último valor experimental, tiempo T .

Q_{100} : Cantidad máxima de fármaco disuelto.

T : Último punto experimental del tiempo.

$$ABC_0^T = \sum_{i=1}^{i=n} \frac{(Y_i + Y_{i-1})(t_i - t_{i-1})}{2}$$

Ecuación 6: área bajo la curva de disolución.

Donde:

n: Número de tiempos de muestreo.

Y_i: Porcentaje de fármaco disuelto al tiempo t_i.

t_i: Tiempo de muestreo.

También se tiene el tiempo medio de disolución (TMD), el cuál ayuda a comparar productos y permite observar cual presenta una velocidad mayor de disolución con un menor TMD, éste se calcula con la fórmula siguiente (60), (61).

$$TMD = \frac{\sum[(t_i) (\Delta Q_i)]}{Q_{\infty}}$$

Ecuación 7: tiempo medio de disolución.

Donde:

t_i: Tiempo intermedio de los intervalos de tiempo muestreados.

ΔQ_i: Incremento de las cantidades de fármaco disuelto a cada intervalo de t considerado.

Q_∞: Cantidad máxima de fármaco disuelto o cantidad de fármaco disuelta a tiempo infinito.

4.8.2. Método modelo dependiente

Algunas teorías o modelos matemáticos pueden describir la disolución de fármacos. Algunos modelos representan el perfil de disolución de fármaco y la interpretación cuantitativa de los valores obtenidos en el análisis de la disolución se facilita por el uso de una ecuación genérica que relaciona matemáticamente la curva de disolución en función de algunos parámetros de la forma farmacéutica. En algunos casos, la ecuación se puede deducir por un análisis teórico del proceso, por ejemplo, en la cinética de orden cero, primer orden, segundo orden, etc. (65), (66); algunos de los modelos matemáticos se muestran en la tabla 4 (61).

Tabla 4: modelos matemáticos utilizados para describir la disolución de fármacos.

Orden cero	$Q_t = Q_0 + K_0 t$
Primer orden	$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t$
Segundo orden	$\frac{Q_t}{Q_0} (Q_\infty - Q_t) = K_2 t$
Hixson-Crowell	$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_s t$
Weibull (función)	$\log \left[-\ln(1 - (Q_t/Q_\infty))^{2/3} \right] - (Q_t/Q_\infty) = K t$
Higuchi	$Q_t = K_H \sqrt{t}$
Baker-Lonsdale	$(3/2) \left[1 - \left(1 - \left(\frac{Q_t}{Q_\infty} \right) \right)^{2/3} \right] - (Q_t/Q_\infty) = K t$
Korsmeyer-Peppas	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_k t^n$
Cuadrático	$Q_t = 100 (K_1 t^2 + K_2 t)$
Logístico	$Q_t = A / [1 + e^{-K(t-y)}]$
Gompertz	$Q_t = A e^{-e^{-K(t-y)}}$
Hopfenberg	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - \left[1 - \frac{k_0 t}{C_0 a_0} \right]^n$

Q_t: Cantidad de fármaco disuelto en el tiempo.

Q₀: Cantidad de droga inicial en la solución.

K₀: Constante de liberación de orden cero.

t: Tiempo.

K₁: Constante de liberación de primer orden.

Q_∞: Cantidad total de fármaco disuelto.

K₂: Constante de liberación de segundo orden.

K_s: Constante que incorpora la relación superficie-volumen.

K: Constante de velocidad de liberación.

K_H: Constante de disolución de Higuchi.

K_k: Constante de liberación, característico para las interacciones polímero-fármaco.

A: Valor máximo de la curva.

y: Valor t del punto medio del sigmoide.

k₀: Constante de rapidez de erosión.

C₀: Concentración inicial del fármaco en el sistema.

a₀: Radio inicial de la esfera, cilindro o la mitad del ancho de la lámina.

n: 1 (placa), 2 (cilindro) o 3 (esfera).

4.8.3. Criterios para la elección del mejor modelo para describir la curva de disolución de medicamentos

La selección de un modelo adecuado para los datos de disolución apropiado es esencial, no sólo para la evaluación cuantitativa de las características de liberación del fármaco, sino también para la comparación de perfiles de disolución utilizando enfoques modelo dependientes. Dentro de los criterios que pueden ayudar para la selección se tiene: el coeficiente de determinación (r^2), coeficiente de correlación (r), el criterio de información de Akaike (AIC, por sus siglas en inglés de *Akaike information criterium*), entre otros. El AIC es ampliamente utilizado como criterio de selección del modelo que mejor se ajusta a determinado grupo de datos, sobre todo cuando los modelos considerados no contienen el mismo número de parámetros; el mejor ajuste será el que tenga el menor valor de AIC, la fórmula para calcular el AIC es la siguiente (61), (62), (67).

$$AIC = (n) \ln(SSQ) + 2p$$

Ecuación 8: criterio de información de Akaike.

Donde:

n: Número de los pares de datos experimentales empleados en el ajuste.

SSQ: Suma de los cuadrados de los residuales.

p: Número de los parámetros de la función de ajuste.

Para obtener la SSQ se hace con la siguiente fórmula.

$$SSQ = \sum (Y_{experimental} - Y_{calculada})_i^2$$

Ecuación 9: suma de cuadrados de los residuales.

Capítulo V

Diseño del estudio y parte experimental

V. Diseño del estudio y parte experimental

Dado que en la actualidad no se cuenta con especificaciones por parte de la FEUM ni de farmacopeas de otros países (Americana, Japonesa, Argentina), para la realización de los perfiles de disolución de suspensiones de NTF, se realizaron dichos perfiles de acuerdo a la metodología sugerida por la FDA en la sección de métodos de “*Dissolution methods*” con algunas modificaciones (68). La propuesta del estudio se presenta en la tabla 5.

Se realizaron los perfiles de disolución para los 3 medicamentos de nitrofurantoína del mercado nacional: suspensiones, cápsulas y tabletas, producidos por el laboratorio Boehringer Ingelheim®.

Tabla 5: diseño del estudio de disolución.

Forma farmacéutica	Aparatos		Tipo de muestreo		Tiempo de muestreo (minutos)
Suspensiones	2		Manual	Automatizado	3, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 180
Cápsulas	1	2	Manual	Automatizado	5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 180
Tabletas	1	2	Manual	Automatizado	5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 180

5.1. Adquisición de medicamentos

Las suspensiones de NTF se adquirieron a través del servicio de la farmacia del Hospital Infantil de las Californias para hacer los estudios requeridos, mientras que las cápsulas y tabletas se consiguieron a través de las farmacias Gusher. En la tabla 6 se muestra la información de los medicamentos utilizados para los estudios.

Tabla 6: información de los medicamentos.

Forma farmacéutica	Nombre comercial	Dosis	No. de lote	Fecha de caducidad	Cantidad adquirida
Suspensión	Macrofantina Infantil	25 mg/5 mL	A4516A	Junio 2016	11 frascos con 120 mL
Cápsula	Macrofantina	100 mg	456667	Mayo 2017	1 caja con 40
Tableta	Furadantina	100 mg	155794	Octubre 2016	1 caja con 40

5.2. Control farmacéutico de medicamentos seleccionados

Las pruebas de control farmacéutico realizadas para las suspensiones de NTF fueron: volumen, pH, límites microbianos y ensayo de identidad. Para las cápsulas y tabletas solo se realizó el ensayo de identidad. Estas pruebas fueron conducidas con base en las especificaciones de la FEUM 13ra edición y USP 29na edición (49), (69), (48).

5.2.1. Aparatos, equipos, materiales y reactivos

Aparatos

- Parrilla eléctrica con agitador magnético VWR Dyla dual
- Estufa Blue M

Equipos

- Potenciómetro Corning Scholar 425
- Balanza analítica Mettler Toledo
- Espectrofotómetro infrarrojo FT-IR Nicolet is5

Materiales

- 1 Pipeta graduada de 5 mL, Kimax
- 1 pipeta graduada de 10 mL, Kimax
- 1 Perilla de 3 vías
- 40 Tubos de ensaye 16 x 150 mm con tapón de rosca, Pyrex y Kimax
- 1 Gradilla para tubos de ensaye
- 1 Probeta de 250 mL, Pyrex
- 1 Probeta de 100 mL, Kimax
- 1 Probeta de 25 mL, Pyrex
- 1 Barra magnética (mosca), Cowie
- 1 Vaso de precipitados de 600 mL, Pyrex

- 40 Tubos de ensaye de 13 x 100 mm con tapor de rosaca, Pyrex y Kimax
- 3 Vasos de precipitados de 250 mL, Pyrex
- 1 Vaso de precipitados de 100 mL, Kimax
- 1 Vaso de precipitados 50 mL, VWR
- 1 Vaso de precipitados de 30 mL, Pyrex
- 1 Cuchara espátula de teflón
- 1 Pizeta de 500 mL
- 3 Vidrios de reloj, Pyrex
- 2 Embudos de vidrio de tallo largo, Pyrex

Reactivos

- Estándar de Nitrofurantoína, Sigma-Aldrich
- Fosfato monobásico de potasio, Fermot
- Hidróxido de sodio, grado reactivo
- Ácido fosfórico, grado reactivo
- Acetona, grado reactivo
- Ácido acético, grado reactivo
- Cápsulas calibradoras para potenciómetro pH's 4, 7 y 10, Hach
- Agua destilada, Sparkletts

- Caldo de soya tripticaseína (TSB)
- Agar soya tripticaseína (TSA)
- Agar nutritivo (A. N.)
- Caldo selenito cisteína
- Agar xilosa-lisina-desoxicolato (X. L. D.)
- Agar sulfito de bismuto
- Agar eosina azul de metileno de Levine
- Agar Mc Conkey
- Agar urea de Christensen
- Agar citrato de Simmons
- Agar hierro de Kingler (KIA)
- Agar de triple azúcar y de hierro (TSI)
- Medio base para prueba de O/F Hugh y Leisfon
- Caldo MR-VP
- Agar lisina de hierro (LIA)
- Medio MIO
- Medio SIM
- Glucosa
- Lactosa

5.2.2. Variación de volumen (suspensión oral)

1. Se seleccionaron 10 frascos (mismo lote), de suspensión de NTF de 120 mL.
2. Se agitaron y vaciaron en una probeta de 250 mL, evitando la formación de burbujas (permitir el escurrimiento protegiendo de la luz) durante un tiempo no mayor de 30 minutos.
3. El volumen promedio de los 10 envases se espera que no sea menor de lo declarado en el marbete y el volumen de ningún contenedor debe ser menor al 95% (49).

5.2.3. Potenciometría (suspensión oral)

1. Se calibro el potenciómetro con dos soluciones amortiguadoras (pH 7 y 10). Se enjuago el electrodo, se secó con papel absorbente y calibro con la segunda solución.
2. Se colocaron 20 mL de suspensión en un vaso de precipitados de 50 mL y determinar pH.
3. Los resultados se reportan hasta 0.01, los valores obtenidos no deben tener una variación mayor de 0.02 unidades de pH (49).

5.2.4. Ensayos de identidad: Espectro Infrarrojo

1. Se agregaron 10 mL de suspensión y 15 mL de acetona en un vaso de precipitados de 50 mL.
2. Se calentó a 50 °C con agitación, para ayudar a coagular los excipientes.
3. Se filtró y evaporó la acetona del filtrado con la ayuda de una corriente de aire caliente, casi hasta sequedad.

4. Se agregaron 10 mL de ácido acético, se calentó a ebullición y filtro mientras estaba caliente.
5. Se enfrió el filtrado a temperatura ambiente, para precipitar la nitrofurantoína.
6. Se filtró la nitrofurantoína precipitada, se secó a 105 °C por 1 hr.
7. Se colocó suficiente muestra sobre la celda del espectrofotómetro infrarrojo FT-IR Nicolet is5
8. Se comprime la muestra y leen las trasmittancias (49), (70), (71), (72).

5.2.5. Límites microbianos (suspensión oral)

Estas pruebas tienen como objetivo evaluar la calidad sanitaria de productos farmacéuticos, mediante el recuento de microorganismos, así como, la investigación de microorganismos objetables en dichos productos como *Salmonella* (69), (73).

5.2.5.1. Medios de cultivo

Los medios de cultivo se prepararon a partir de las mezclas deshidratadas siguiendo las instrucciones del fabricante. Es necesario disolverlo completamente en agua (calentar si es necesario). Se ajustó el pH a 30 °C $\pm$ 2 °C con soluciones de HCl o NaOH 0.1 N o 1 N según se requería. Los medios de cultivo y soluciones se esterilizaron usando procesos validados (69). La composición y preparación de los medios de cultivo y pruebas bioquímicas se presentan en el anexo II.

5.2.5.2. Prueba preliminar para evaluar la neutralización de la actividad antimicrobiana

La validez de este conjunto de pruebas se basa en su capacidad para poner en evidencia los microorganismos presentes en un producto farmacéutico. Por esta razón, antes de establecer en forma rutinaria el análisis de un producto es necesario demostrar que, bajo las condiciones de prueba, es posible recuperar a los microorganismos control, previamente inoculados en la muestra, para la realización de esta prueba se utilizará la cepa *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 10536 y *Salmonella* sp. de origen clínico (69), (73).

5.2.5.2.1. Preparación de los microorganismos control

A partir de cultivos de 18 a 24 hrs de incubación en caldo soya tripcaseína, de *E. coli* se prepararon diluciones decimales en el diluyente apropiado por lo menos hasta 10⁻⁶.

Se inoculó 1 mL de la suspensión que contenía más de 100 UFC/mL (unidades formadoras de colonias/mL) en la primera dilución del producto.

Si al finalizar el procedimiento el microorganismo control no se recupera en los medios señalados para este propósito, modificarlo considerando las siguientes posibilidades:

- Aumentar el volumen de diluyente manteniendo constante la cantidad de producto.
- Neutralizar la acción del antimicrobiano adicionando el agente inactivante, polisorbato 80 (tween 80) al 10%.
- Combinación de los procedimientos anteriores.
- Cuando proceda, emplear el método de filtración (69).

5.2.5.2.2. Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

1. De una caja petri con la cepa problema se tomó una asada y se colocó en 9 mL de TSB y homogenizo. Se incubo por 24 horas a 37 °C, se tomó de esta suspensión 1 mL, con una pipeta estéril, se pasó a un tubo con 9 mL de TSB, agitó hasta homogenizar y rotulo como 10^{-1} .
2. Con una pipeta estéril se toma 1 mL de la dilución 10^{-1} y se colocó en un tubo con 9 mL TSB, se agitó hasta homogenizar y se rotuló como 10^{-2} .
3. Se repitió el paso anterior para las diluciones de 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} .
4. Una vez obtenidas las diluciones se tomaron 0.1 mL con pipeta estéril de cada tubo y colocó en una caja petri con TSA y se extendió con asa de Digrasky, por duplicado.
5. Se incubaron las cajas petri por 24 horas a 37 °C. Una vez transcurrido este tiempo se trabajó con la dilución que presente más de 100 UFC (69), (73), (74), (75), (76).

5.2.5.2.3. Investigación de microorganismos objetables en suspensiones de NTF

1. A 90 mL de caldo TSB se agregó, con la ayuda de una probeta estéril, 10 mL de suspensión de NTF y se homogenizo.
2. Con una pipeta de 10 mL se tomaron 9 mL de esta muestra y se pasó a un tubo estéril, se repitió esto hasta tener tres tubos con este volumen.
3. Se inoculo un tubo con 1 mL de la suspensión de *E. coli* que presenta más de 100 UFC/mL.
4. Se repitió el paso 3 para *Salmonella* y además se preparó un tubo control con 1 mL de TSB.
5. Se incubaron por 24 horas y esperando observar crecimiento (si no se logra ver crecimiento pasar a una caja petri con agar TSA o nutritivo).
6. Se tomó una asada de cada uno de los cultivos anteriores y resembrar por estría cruzada en los medios: agar xilosa-lisina-desoxicolato y agar sulfito de bismuto.

7. Se observó la morfología microscópica y colonial; se comparó con la descrita en el anexo III.
8. Si las características son similares, resembrar en medio agar triple azúcar hierro por estría y picadura. Se incubo y leyeron los resultados, si las características corresponden con las de *Salmonella sp.*, confirmar la presencia de ésta utilizando pruebas bioquímicas.
9. A partir del medio TSB, se tomó una asada y aisló resembrando por estría cruzada el medio agar de eosina-azul de metileno de Levine o agar Mac Conkey.
10. Se incubo y observo el crecimiento, si la morfología colonial y la microscópica no corresponden con la descrita en el anexo III, la muestra cumple el requisito de ausencia de *E. coli*.
11. La presencia de *E. coli* debe confirmarse utilizando pruebas bioquímicas.
12. De no observarse crecimiento se tiene que pasar a la primera condición (69), (73), (74), (75), (76).

5.2.5.2.3.1. Primera condición (aumento de volumen)

1. A 90 mL de caldo TSB se agregó con la ayuda de una probeta estéril 10 mL de suspensión de NTF y homogenizo.
2. Con una pipeta de 10 mL se tomaron 9 mL de esta muestra y se pasaron a un tubo con un volumen de TSB de 4.5 mL, triplicado.
3. Se repitió paso 2 pero en un tubo con 9 mL y 13.5 mL de TSB, por triplicado.
4. A 3 tubos, con diferente volumen, se agregó 1 mL de la dilución de *E. coli* que da las UFC requeridas, se hizo lo mismo para otros 3 tubos utilizando 1 mL de la dilución de *Salmonella* y otros 3 tubos con 1 mL de TSB como blanco.
5. Se incubo de 24 a 48 horas a 37 °C, después de este tiempo se tomó 0.1 mL con una pipeta estéril y paso a una caja petri con TSA para cada tubo, se extendió e incubo para observar crecimiento.
6. De no obtenerse crecimiento pasar a la segunda condición

5.2.5.2.3.2. Segunda condición (empleo de tween 80)

1. A 80 mL de TSB se agregaron 10 mL de tween 80 (esterilizado en estufa 1 hora a 70 °C) y se homogenizo. Se agregaron 10 mL de suspensión de nitrofurantoína y homogenizo.
2. Se inoculo un tubo con 1 mL de la suspensión de *E. coli* que presenta más de 100 UFC/mL.
3. Se repitió el paso 3 para *Salmonella* y además preparar un tubo control con 1 mL de TSB.

4. Se incubo por 24 a 48 horas y observar crecimiento (si no se logra ver crecimiento pasar a una caja petri con agra TSA o nutritivo).
5. En caso de no obtener crecimiento pasar a la tercera condición.

5.2.5.2.3.3. Tercera condición (aumento de volumen y empleo de tween 80)

1. Se repitió paso 1 de la segunda condición.
2. Se repitieron pasos 2, 3 y 4 de la primera condición.
3. Se incubo por 24 a 48 horas y observar crecimiento (si no se logra ver crecimiento pasar a una caja petri con agra TSA o nutritivo).
4. En caso de no obtener crecimiento pasar a la cuarta condición

5.2.5.2.3.4. Cuarta condición (filtración)

1. Se esterilizo el sistema de filtración de vidrio en autoclave a 121 °C por 15 minutos, al igual que los filtros.
2. Se colocó el sistema de filtración, en condiciones asépticas, a un matraz de 500 mL.
3. Se midieron 10 mL de suspensión de nitrofurantoína en una probeta estéril y se pasó al sistema de filtración.
4. Se adiciono 90 mL de medio TSB y se encendió la bomba de vacío.
5. Se pasó la solución filtrada a tubos de ensayo estériles y se realizaron las condiciones en listadas anteriormente.

5.2.5.2.4. Tinción de Gram

1. Se tomó una colonia aislada de un cultivo reciente de no más de 24 horas.
2. Se extendió la muestra sobre un portaobjetos, se secó y fijo con calor.
3. Se cubrió la extensión con solución de cristal violeta por un minuto.
4. Se Lavó con agua destilada y se dejó escurrir.
5. Se cubrió con lugol un minuto.
6. Se lavó con agua.
7. Se decoloro con la solución de alcohol-acetona por 30 segundos.
8. Se lavó con agua.
9. Se cubrió la extensión con solución de safranina un minuto.
10. Se lavó con agua y se dejó secar.
11. Se observó al microscopio óptico (77), (78), (79).

5.2.5.2.5. Gota pendiente

1. Se depositaron en condiciones asépticas tres o cuatro asadas de la suspensión bacteriana en el centro del cubreobjetos limpio y libre de grasa. (También se puede usar una pipeta Pasteur estéril para este fin).
2. Se colocó un punto de vaselina en las cuatro esquinas del cubreobjetos utilizando para ello un aplicador de madera.

3. Se invirtió y colocó un portaobjetos con depresión sobre el cubreobjetos que contiene la gota de la suspensión bacteriana cuidando que quede bien centrado para que la excavación quede directamente encima de la gota. La gota no debe tocar el portaobjetos.
4. Se presionó suavemente cubreobjetos y portaobjetos para que se adhieran perfectamente.
5. Se invirtió rápidamente. La gota que contiene el material a examinar pende del cubreobjetos sobre la concavidad del portaobjetos.
6. Se observó al microscopio con el objetivo seco débil y enseguida con el seco fuerte e inmersión.
7. Determinar si hay movilidad real, desplazamiento de las células de un lado a otro dentro del campo microscópico (motilidad positiva), o movimiento browniano (motilidad negativa) (80), (81).

5.2.5.3. *Pruebas bioquímicas*

Los medios para realizar las pruebas bioquímicas se prepararon a partir de las mezclas deshidratadas siguiendo las instrucciones del fabricante. Es necesario disolverlo completamente en agua (calentar si es necesario). Se determinó el pH a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y ajustó el pH si hace falta con soluciones de HCl o NaOH 0.1 N o 1 N según sea el caso. Se vertió a los tubos y esterilizó usando procesos validados; se dejaron enfriar o gelificar (según sea el caso) antes de usarse (69). La muestra a inocular se tomó con un asa o alambre de picadura (según sea el caso) de una caja petri de TSA (o agar nutritivo) con el microorganismo problema. La interpretación de las pruebas bioquímicas se realizará según se indica en el anexo IV.

5.2.5.3.1. *Producción de enzimas*

5.2.5.3.1.1. *Prueba de oxidasa*

Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro y actúan como el último eslabón de la cadena respiratoria aerobia, transfiriendo electrones al oxígeno, con formación de agua. El sistema de citocromos se encuentra en los organismos aerobios o anaerobios facultativos, de modo que la prueba de oxidasa es importante para identificar a los organismos que carecen de la enzima o son anaerobios obligados. La prueba de citocromo oxidasa utiliza ciertos reactivos colorantes, como el diclorhidrato de *p*-fenilendiamina, que actúan como aceptores artificiales de electrones, sustituyendo al oxígeno.

1. Se seleccionó una colonia aislada dentro de un cultivo.
2. Se adiciono a esta colonia 2 a 3 gotas de reactivo para oxidasa de Kovac.
3. Esperar de 5 a 10 segundos (82), (83).

5.2.5.3.1.2. Prueba de catalasa

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Es una hemoproteína de estructura similar a la hemoglobina, salvo porque los cuatro átomos de hierro de su molécula están en estado oxidado en lugar de estado reducido. El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales de oxidación del metabolismo aerobio de los carbohidratos. Si se permite que se acumule, resulta letal para la bacteria. La catalasa convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.

1. Con la ayuda de un asa, se tomó una colonia de un cultivo.
2. Se colocó la colonia sobre un portaobjetos
3. Se adiciono una gota de peróxido de hidrógeno al 3% y observar la formación de burbujas, no homogenizar con la ayuda del asa pues reaccionaría catalizando la reacción (82), (83).

5.2.5.3.1.3. Prueba de ureasa

Esta prueba se realiza para identificar la presencia de la enzima ureasa. La ureasa es una enzima que poseen muchas especies de microorganismos con la cual pueden hidrolizar la urea.

1. Se pasó a un tubo de ensaye de 16 x 150 mm con tapón de rosca previamente flameado, que contiene medio de urea de Christensen. Se hizo una estría sobre el pico de flauta, realizando movimientos de zig-zag hasta completar toda la superficie del medio.
2. Se flameo la boquilla del tubo y se cerró.
3. Se incubo a 37 °C de 24-48 horas, junto con otro tubo con el mismo medio sin inóculo (82), (83).

5.2.5.3.2. Prueba de utilización de carbohidratos

5.2.5.3.2.1. Prueba de utilización de citrato

Algunas bacterias pueden obtener energía por vía distinta de la de fermentación de carbohidratos, utilizando citrato como única fuente de carbono. La utilización de citrato por una bacteria se detecta en un medio con citrato mediante la formación de subproductos alcalinos. El medio incluye citrato de sodio como única fuente de carbono y fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno.

1. Se incubo en un tubo de ensaye, 16 x 150 mm con tapón de rosca previamente flameado, con medio de citrato de Simmos. Se hizo una estría sobre el pico de flauta, realizando movimientos de zig-zag hasta completar toda la superficie del medio.
2. Se flameo la boquilla del tubo y se cerró.

3. Se incubo a 37 °C de 24-48 horas, junto con otro tubo con el mismo medio sin inóculo (83), (84).

5.2.5.3.2.2. Oxidación-fermentación de carbohidratos

Con esta prueba se busca determinar la capacidad de un organismo de atacar un carbohidrato específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de posible ácido sulfhídrico. La preparación se realiza con dos agares: agar hierro de Kigler (KIA) que presenta los carbohidratos glucosa y lactosa y el agar triple azúcar y hierro (TSI) que contiene glucosa, sacarosa y lactosa; estos agares se preparan en “pico de flauta” donde la porción inclinada tiene expuesta toda su superficie al oxígeno atmosférico, siendo ésta anaerobia y la porción inferior está protegida del aire y es relativamente anaerobia.

1. Se sembró por picadura un tubo de ensaye de 16 x 150 mm con tapón de rosca previamente flameado, con medio de KIA y otro con medio de TSI en la parte media, para depositar el inóculo.
2. Se flameo la boquilla del tubo y se cerró.
3. Se tomó con un asa la muestra de una caja petri con el microorganismo problema.
4. Se pasó al mismo tubo de ensaye previamente inoculado. Se hizo una estría sobre el pico de flauta, realizando movimientos de zig-zag hasta completar toda la superficie del medio.
5. Se incubo a 37 °C de 18-24 horas, junto con otro tubo con el mismo medio sin inóculo (83), (84).

5.2.5.3.2.3. Prueba de Voges-Proskauer (V. P.) y de rojo de metilo

En la reacción de V. P. el ácido pirúvico, componente fundamental en la degradación fermentativa de la glucosa, es metabolizado luego a través de varias vías, de acuerdo con los sistemas enzimáticos que poseen las diferentes bacterias. Una de dichas vías lleva a la producción de acetil-metil-carbinol (acetoína), un subproducto de reacción neutra. En presencia de oxígeno atmosférico e hidróxido de potasio al 40%, la acetoina se convierte a diacetilo y el α -naftol sirve de catalizador para producir un complejo de color rojo.

Por otro lado, la prueba de rojo de metilo es una prueba cuantitativa de la producción de ácido, que requiere que los microorganismos positivos produzcan ácidos de fuerza media (láctico, acético, fórmico) a partir de la glucosa, por la vía de la fermentación ácida mixta.

1. Se sembró por picadura dos tubos de ensaye de 16 x 150 mm con tapón de rosca previamente flameado, con medio de Clark y Lubs en la parte media, para depositar el inóculo.
2. Se flameo la boquilla del tubo y se cerró.
3. Se incubo a 37 °C de 18 a 24 horas (para prueba de V. P.), mientras que el otro se incubo a 37 °C de 48 a 72 horas (para prueba de rojo de metilo), se incubaron además otros dos tubos sin inóculo como control.
4. Se añadió 0.6 mL de α -naftol al 5% seguidos de 0.2 mL de KOH al 40% a un tubo control y al tubo para realizar la prueba de V. P., se agito y dejó reposar durante 10 a 15 minutos.
5. Se añadió 0.25 mL de rojo de metilo a los otros dos tubos después del tiempo de incubación (83), (84).

5.2.5.3.2.4. Prueba de la oxidación-fermentación de glucosa y/o lactosa

Esta prueba se realiza en un medio que presenta una menor relación de proteínas y una relación elevada de carbohidratos, con lo cual se reduce la formación de aminas alcalinas que pueden neutralizar las pequeñas cantidades de ácidos débiles derivados del metabolismo oxidativo. La concentración relativamente mayor de carbohidratos sirve para aumentar potencialmente la producción de ácido.

1. Se sembró por picadura dos tubos de ensaye de 16 x 150 mm con tapón de rosca previamente flameado, con medio de Hugh y Leifson en la parte media, para depositar el inóculo.
2. Se flameo la boquilla del tubo para hacer que se desprenda el oxígeno incluido en el medio y se cerró.
3. Se selló uno de los tubos con 1 o 2 mL aceite mineral estéril para mantenerlo en anaerobiosis. Se cerraron ambos tubos con su tapón de rosca.
4. Se incubo a 37 °C de 48 a 72 horas, junto con otros dos tubos con el mismo medio sin inóculo (uno de éstos con aceite mineral) (83), (85).

5.2.5.3.3. Metabolismo de aminoácidos

5.2.5.3.3.1. Prueba de descarboxilación de aminoácidos

Esta prueba se puede realizar con el agar de hierro y lisina (LIA) en el cual se puede medir la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido (lisina) para formar una amina con la consiguiente alcalinización.

También otra forma de evaluar la descarboxilación es con el medio MIO (motilidad-indol-ornitina), el cual se trabaja con el aminoácido ornitina, en este medio también se puede evaluar motilidad y producción de indol.

1. Se sembró por picadura un tubo de ensaye de 16 x 150 mm con tapón de rosca previamente flameado, con medio de LIA en la parte media, para depositar el inóculo.
2. Se flameo la boquilla del tubo y se cerró.
3. Se tomó con un asa la muestra de una caja petri con el microorganismo problema.
4. Se pasó al mismo tubo de ensaye previamente inoculado. Se hizo una estría sobre el pico de flauta, realizando movimientos de zig-zag hasta completar toda la superficie del medio.
5. Se incubo a 37 °C de 18 a 24 horas, junto con otro tubo con el mismo medio sin inóculo (84), (86).
6. Se picó un tubo de ensaye de 16 x 150 mm con tapón de rosca previamente flameado, con medio MIO en la parte media, para depositar el inóculo.
7. Se flameo la boquilla del tubo y se cerró.
8. Se incubo a 37 °C de 24 a 48 horas, junto con otro tubo con el mismo medio sin inóculo.
9. Con esta prueba se puede determinar la movilidad, indol (es recomendable realizarla al final) y descarboxilacion de la ornitina (83), (86).

5.2.5.3.3.2. *Producción de ácido sulfhídrico (H₂S)*

Ciertas especies bacterianas tienen la capacidad de liberar azufre a partir de aminoácidos azufrados (cisteína y metionina) y otros compuestos que los contienen, la producción de gas H₂S, constituye una característica importante para la identificación. El medio SIM (sulfuro-indol-motilidad) es más sensible para detectar el H₂S, debido a su consistencia semisólida, la ausencia de carbohidratos que inhiban la formación del H₂S y el uso de hierro peptonado como indicador. En este medio también se puede evaluar motilidad e indol.

1. Se sembró por picadura un tubo de ensaye de 16 x 150 mm con tapón de rosca previamente flameado, con medio MIO en la parte media, para depositar el inóculo.
2. Se flameo la boquilla del tubo y se cerró.
3. Se incubo a 37 °C de 24 a 48 horas, junto con otro tubo con el mismo medio sin inóculo.
4. Con esta prueba se puede determinar la movilidad, indol (es recomendable realizarla al final) y producción de H₂S (83), (84).

5.2.5.3.3.3. *Prueba de indol*

La prueba de indol está basada en la formación de un complejo de color rojo cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del *p*-dimetilaminobenzaldehído. Se debe utilizar un medio rico en triptófano para esta prueba, en la práctica se

emplean los medios SIM y MIO que presentan triptófano, para la determinación se agregaron 5 gotas de reactivo de Kovac por las paredes del tubo (83).

5.3. Estudios de disolución de medicamentos que contienen Nitrofurantoína

5.3.1. Aparato, equipo, material y reactivos

Aparatos

- Disolutor: Distek dissolution system 2100C (aparato 1 y 2)
- Bomba peristáltica Agilent
- Ultrasonido Branson 3510
- Agitador vórtex Barnstead Thermolyne Type 16700 Mixer
- Bomba de vacío Welch
- Parrilla eléctrica con agitador magnético VWR Dyla dual
- Termocirculador Van-Kel circulator VK-6

Equipos

- Espectrofotómetro UV-Visible HACH-DR 6000
- Espectrofotómetro con celda de flujo continuo Agilent 84530
- Cánulas con filtros reemplazables
- Software UV-Vis System
- Computadora HP Compaq 8000 Elite Small Form Factor
- Potenciómetro Corning scholar 425
- Balanza analítica Mettler Toledo
- Balanza digital Mettler PM 3000

Material

- 16 Matraces volumétricos de 10 mL, Pyrex y Kimax
- 1 Matraz volumétrico de 25 mL, Kimax
- 1 Matraz volumétrico de 100 mL, Kimax
- 1 Matraz volumétrico de 200 mL, Pyrex
- 1 Matraz volumétrico de 250 mL, Pyrex
- 1 Matraz volumétrico de 500 mL, Kimax
- 3 Matraces volumétricos de 1000 mL, Pyrex
- 1 Pipeta volumétrica de 5 mL, Kimax
- 1 Pipeta graduada de 5 mL, Kimax
- 1 Micropipeta de 100 μ L a 1000 μ L, Finn timer Thermo scientific
- 1 Perilla de 3 vías
- 60 Tubos de ensaye de 13 x 100 mm, Pyrex y Kimax
- 3 Gradillas para tubos de ensaye
- 2 Probetas de 500 mL, Pyrex
- 1 Probeta de 250 mL, Pyrex
- 1 Probeta de 100 mL, Kimax
- 1 Probeta de 25 mL, Pyrex
- 2 Matraces Kitasato de 1000 mL, Pyrex

- Agitador de vidrio
- 2 Vasos de precipitados de 1000 mL, Pyrex
- 1 Vaso de precipitados de 600 mL, Pyrex
- 3 Vasos de precipitados de 250 mL, Pyrex
- 1 Vaso de precipitados de 100 mL, Kimax
- 1 Vaso de precipitados 50 mL, VWR
- 1 Vaso de precipitados de 30 mL, Pyrex
- 1 Cuchara espátula de teflón
- 1 Pizeta
- 3 Vidrios de reloj, Pyrex
- Membrana para filtración de nylon 0.47 mm
- Sistema de filtración de vacío, Nalgene

- 6 jeringas de plástico de 20 mL
- 6 jeringas de 10 mL
- 6 jeringas de 5 mL
- Filtros para jeringa de 0.45 μm , marcas Minisart y Nalgene

Reactivos

- Estándar de Nitrofurantoína, Sigma-Aldrich
- Dimetilformamida, Sigma-Aldrich
- Fosfato monobásico de potasio, Fermot
- Hidróxido de sodio, grado reactivo
- Ácido fosfórico, grado reactivo
- Cápsulas calibradoras para potenciómetro pH 4, 7 y 10, HACH
- Agua destilada, Sparkletts

5.3.2. Preparación de Soluciones

5.3.2.1. Solución amortiguadora para calibración del potenciómetro (pH 4, 7, 10)

1. Se midió con la ayuda de una probeta de 100 mL, 50 mL de agua destilada.
2. En un recipiente limpio, seco y con tapadera de rosca, se colocó aproximadamente 25 mL de agua destilada.
3. Se colocó el contenido de la “cápsula”, agitar hasta disolver.
4. Se rotuló con nombre, pH y fecha de elaboración.

5.3.2.2. Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.2 M

1. Se calentó 1000 mL de agua destilada para eliminar el CO_2 y se dejó a temperatura ambiente manteniéndola tapada con un vidrio de reloj.
2. Se pesaron 8 g de NaOH y se transfirió a un matraz volumétrico de 1000 mL que contenía aproximadamente 250 mL de agua libre de CO_2
3. Se colocó en ultrasonido por 5 minutos para disolver
4. Se aforo hasta la marca con agua libre de CO_2 .

5.3.2.3. Solución de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4) 0.2 M

1. Se pesó en balanza digital 27.2 g de KH_2PO_4 .

2. Se transfirió el KH_2PO_4 a un matraz volumétrico de 1000 mL que contenía aproximadamente 250 mL de agua destilada.
3. Se colocó en ultrasonido para disolver.
4. Se aforo hasta la marca.

5.3.2.4. Solución de hidróxido de potasio (KOH) 0.2M

1. Se pesó en balanza digital 1.12 g de KOH.
2. Se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL que contenía 50 mL de agua destilada.
3. Se disolvió en ultrasonido.
4. Se aforo hasta la marca.

5.3.2.5. Solución de ácido fosfórico (H_3PO_4) 2 M

1. En un matraz de 100 mL se colocaron aproximadamente 20 mL de agua destilada.
2. Se pasó 16 mL de H_3PO_4 (85% de concentración) al matraz.
3. Se agregó cuidadosamente agua y se permitió enfriar.
4. Se almaceno en frasco ámbar.

5.3.2.6. Solución amortiguadora (S.A) de fosfatos pH 7.2 ± 0.05 (medio de disolución)

1. En un vaso de precipitados de 1000 mL se mezcló 250 mL de solución de KH_2PO_4 0.2 M con 175 mL de NaOH 0.2 M y 500 mL de agua destilada.
2. Con la ayuda de un potenciómetro se midió el pH, si es necesario ajustar el pH con solución 2 M de KOH o H_3PO_4 al 85%.
3. Se pasó a un matraz volumétrico de 1000 mL y se aforo con agua destilada.

5.3.3. Desgasificación del medio de disolución o solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 ± 0.05

1. Se colocó un matraz Kitasato de 1000 mL en el ultrasonido, se conectó el sistema de vacío (bomba) y el sistema de filtración con un filtro de 0.45 μm .
2. Se vertió con cuidado solución amortiguadora en el sistema de filtración, y se encendió el ultrasonido y bomba de vacío.
3. Una vez filtrados los 1000 mL de solución, se apagó la bomba de vacío y el ultrasonido, se retiró el embudo, tapó el matraz y se vuelve a encender el ultrasonido y la bomba, durante 15 minutos en ultrasonido para desgasificar solución.
4. Se apagó la bomba de vacío y transferir el medio a los vasos del disolutor con la ayuda de una probeta de 500 mL.

5.3.4. Validación del sistema de disolución

5.3.4.1. Linealidad

Preparación de solución patrón de Nitrofurantoína de 100 µg/mL.

1. Se pesaron 10 mg de estándar de Nitrofurantoína en balanza analítica y se pasaron a un matraz volumétrico de 100 mL.
2. Se adiciono 5 mL de dimetilformamida y se colocó en ultrasonido por 5 minutos para ayudar a disolver.
3. Se llevó a aforo con solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 ± 0.05 , previamente filtrada y desgasificada.

Preparación de la curva de calibración

Los puntos de la curva de linealidad se realizan como se indica en la tabla 7. Las soluciones de concentración conocida se preparan en matraces volumétricos de 10 mL y se llevan al aforo con una solución reguladora de fosfatos pH 7.2 ± 0.05 para obtener las siguientes concentraciones 3, 5, 7, 9, 10, 12, 15 y 17 µg/mL.

Tabla 7: preparación de las soluciones de concentración conocida de NTF para la curva de calibración.

Matraz	Concentración (µg/mL)	Volumen de alícuota (µL)	Aforo (mL)
1	3	300	10
2	5	500	10
3	7	700	10
4	9	900	10
5	10	1000	10
6	12	1200	10
7	15	1500	10
8	17	1700	10

5.3.4.2. Precisión

Las concentraciones para calcular precisión se preparan como se indica en la tabla 8 considerando que las concentraciones deben ser intermedias a las que se eligen para linealidad. La solución patrón para la preparación de la curva de precisión se realiza con el mismo método que el de la curva de linealidad, utilizando también una solución patrón de concentración de 100 µg/mL de NTF.

Tabla 8: preparación de las soluciones de concentración conocida de NTF para la determinación de precisión.

Matraz	Concentración (µg/mL)	Volumen Alícuota (µL)	Aforo (mL)
1	4	400	10
2	6	600	10
3	8	800	10
4	11	1100	10
5	16	1600	10

5.3.5. Metodología propuesta para la obtención de perfiles de disolución de medicamentos de NTF

Para la obtención de los perfiles de disolución, los tiempos empleados para su obtención se tomaron a partir de lo propuesto por la FDA para la disolución de suspensiones de NTF, con los tiempos de muestreo de 15, 30, 60, 120 y 180 minutos, además se adicionaron los tiempos de muestreo de 3, 5, 10, 45 y 90 minutos para poder observar mejor la liberación del medicamento.

Las muestras fueron recolectadas utilizando 2 tipos de muestreo como se describe en las tablas 9 y 10.

5.3.5.1. Método de disolución de medicamentos de NTF

Tabla 9: condiciones experimentales para perfiles de disolución de medicamentos de NTF.

Condiciones	Cápsulas	Suspensiones	Tabletas
Medio de disolución	Solución amortiguadora de fosfatos		
Volumen del medio	900 mL		
pH del medio	7.2 ± 0.05		
Temperatura	37 °C ± 0.5		
Aparato	1 (canastas)	2 (paletas)	1 (canastas)
Velocidad de agitación	100 rpm	50 rpm	100 rpm
Longitud de onda	375 nm		
Tiempos de muestreo	3*, 5**, 10, 15***, 30, 45, 60, 90, 120, 180 minutos		
Tipo de muestreo	Muestreo manual		

*Primer tiempo de muestreo de suspensiones

**Primer tiempo de muestreo de cápsulas

***Primer tiempo de muestreo de tabletas

Procedimiento

1. Se colocó el medio de disolución filtrado y desgasificado en cada vaso, esperando a que se alcance la temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$.
2. En caso de trabajar con el aparato 1, se introdujeron las tabletas o cápsulas en las canastillas y se colocaron en la guía del disolutor. Se bajó la plataforma, se colocaron las tapas y se encendió el equipo.
3. Si se trabaja con el aparato 2, se bajó la plataforma que sostiene las paletas, se colocó las tapas y se espera a que se alcance la temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$.
4. Se agito la suspensión en forma manual, 30 veces aproximadamente, antes de tomar la muestra que se va agregar a cada vaso del disolutor.
5. Con una jeringa de 20 mL se tomó una muestra de 20 mL y se colocó la suspensión de NTF en cada vaso.
6. Se encendió el aparato de disolución hasta que todas las muestras se encontraban en los vasos (si se usan canastillas) o cuando se adicione la primera muestra (con paletas).
7. Se tomaron 3 mL muestra a los tiempos señalados en la tabla 9 (para el caso de las tabletas tomar 6 mL muestra para los primeros 4 tiempos de muestreo que se encuentran dentro de la primera hora de disolución y 3 mL para los otros tiempos).
8. Se filtró la muestra usando un filtro Milipore de $0.45\text{ }\mu\text{m}$ y se depositó en un tubo de ensaye de 13 x 100 mm.
9. Se tomó 1 mL de muestra filtrada, se pasó a un matraz volumétrico de 10 mL y se aforo con solución amortiguadora (S. A.) de fosfatos pH 7.2 (para el caso de las tabletas se tomaron 5 mL de las primeras 4 muestras filtradas tomadas hasta la hora y se pasó a un matraz volumétrico de 10 mL y aforo con S. A. de fosfatos pH 7.2. Si las muestras que se obtienen en un intervalo de una hora muestran absorbancias que salen de la curva de calibración, analizarla de nuevo tomando en 1 mL de muestra filtrada en lugar de 5 mL; para las otras muestras se tomará sólo 1 mL y se aforará en matraz volumétrico de 10 mL con S. A. de fosfatos pH 7.2). Leer la absorbancia a 375 nm.

5.3.5.2. *Método de disolución de suspensiones, tabletas y cápsulas de NTF*

Tabla 10: condiciones experimentales para la obtención de perfiles de disolución de medicamentos de NTF.

Condiciones	Cápsulas		Suspensiones	Tabletas	
Medio de disolución	Solución amortiguadora de fosfatos				
Volumen del medio	900 mL				
pH del medio	7.2 ± 0.05				
Temperatura	37 °C ± 0.5				
Aparato	1 (canastas)	2 (paletas)	2 (paletas)	1 (canastas)	2 (paletas)
Velocidad de agitación	100 rpm	75 rpm	50 rpm	100 rpm	75 rpm
Longitud de onda	375 nm				
Tiempos de muestreo	5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 minutos				
Tipo de muestreo	Muestreo automatizado				

Procedimiento:

1. Se colocó el medio de disolución filtrado y desgasificado en cada vaso, esperando a que se alcance la temperatura de 37 °C ± 0.5.
2. Se colocaron los filtros en los muestreadores.
3. Se encendieron la computadora, la bomba, el automuestreador y el espectrofotómetro antes de abrir el programa *UV-visible System* en el modo *On Line* en la computadora; de lo contrario el programa no establecerá conexión con el espectrofotómetro.
4. Se alimentaron las condiciones de trabajo que solicita el programa que se presentan en la tabla 10 y cargar la curva de linealidad que se realizó previamente.
5. Se encendieron las lámparas y se leyó blanco.
6. Se sumergieron los muestreadores (cánulas) en un vaso de precipitados con 200 mL de medio de disolución, requerido para el ciclo de lavado inicial.
7. Se introdujeron las tabletas o cápsulas en las canastillas y se colocaron en la guía del disolutor (en caso de trabajar con el aparato 1). Se bajó la plataforma, se colocaron las tapas y se encendió el equipo.

8. Se bajó la plataforma que sostiene las paletas (si se trabaja con el aparato 2), se colocaron las tapas y se esperó a que se alcance la temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$.
9. Se colocaron las cánulas en los vasos del disolutor y se inició la disolución.
10. Se colocaron las tabletas, cápsulas o suspensión, de acuerdo a la cuenta regresiva que indica el software.
11. Se agito la suspensión en forma manual, 30 veces aproximadamente.
12. Con una jeringa de 20 mL se tomó una muestra de 20 mL de la suspensión de nitrofurantoína, se colocó en cada vaso conforme el conteo regresivo correspondiente introduciéndolas por los orificios de las tapas.
13. Al término de la corrida de disolución se pusieron las cánulas en agua destilada y se ejecutó el ciclo de lavado.
14. Se apagaron lámparas y se cerró el programa.
15. Se apagaron el espectrofotómetro, la bomba y el controlador manualmente.

Capítulo VI

Resultados

VI. Resultados

6.1.Descripción de los medicamentos utilizados

Las suspensiones de NTF utilizadas en el estudio se consiguieron a través del servicio de farmacia del Hospital Infantil de las Californias (se compraron 11 frascos, de 120 mL cada uno) las cuales fueron utilizadas para realizar las pruebas de control de calidad y los perfiles de disolución.

En cuanto a las tabletas y cápsulas de NTF, éstas se compraron en una farmacia de la localidad (Gusher) en la presentación de caja con 40 unidades. A estos medicamentos solo se le realizó la prueba de infrarrojo y perfiles de disolución.

Los medicamentos utilizados son los que la COFEPRIS señala como producto de prueba producido por el laboratorio Boehringer Ingelheim. La información del medicamento se presenta en la tabla 6 del capítulo V, correspondiente a la parte experimental.

6.2.Pruebas de control de calidad para suspensiones de Nitrofurantoína

6.2.1. Variación de volumen

Se utilizaron sólo 10 frascos de suspensión de NTF para realizar esta prueba, de los 10 frascos 8 presentan un volumen de 120 mL y los 2 restantes presentaron 121 y 122 mL de suspensión.

6.2.2. Potenciometría

Para esta prueba se utilizaron tres frascos de suspensión de NTF y se analizaron en diferentes días, los pH mostrados fueron 4.90, 4.88 y 4.89.

6.2.3. Ensayo de identidad

El ensayo de identidad se realizó utilizando el espectrofotómetro infrarrojo FT-IR Nicolet is5, esta prueba se llevó a cabo con el estándar y el principio activo obtenido de NTF obtenido de las formas farmacéuticas con las cuales se realizaron los perfiles de disolución. Cada espectro obtenido se presenta en el apéndice A.

6.2.4. Límites microbianos

En la tabla 11 se presentan los resultados obtenidos del crecimiento microbiano, mientras que en la 12 se muestran los resultados de las pruebas bioquímicas realizadas.

Tabla 11: crecimiento microbiano en muestras de suspensión de NTF.

	1° filtrado en TSA			1° filtrado en TSA			2° filtrado en TSA			2° filtrado en A. N*		
	TSB	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.	TSB	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.	TSB	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.	TSB	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.
A	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
B	✓	✓	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
F	X	X	X	X	✓**	✓	X	X	✓	X	X	✓

*Agar nutritivo

** Se presentaron 3 tipos de colonias

✓: Crecimiento en el agar

A: Tubo con TSB

B: Tubo con 50% más de TSB

C: Tubo con 100% más de TSB

D: Tubo con tween

E: Tubo con tween y 50% más de TSB

F: Tubo con tween y 100% más de TSB

Tabla 12: resultados pruebas bioquímicas

	Cat	Oxi	Glu	Lac	Sac	Gas	H ₂ S	Ure	Ind	Mot	R. M.	V. P.	Lis	Cit
I	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
II	+	-	+	-	-	±	-	-	-	-	+	-	N	-
III	+	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+	-	N	+
IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-
V	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	N	-
VI	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-

I: *E. coli* de la condición B

II: *E. coli* de la condición F

III: *E. coli* de la condición F

IV: *E. coli* de la condición F

V: *Salmonella* sp de la condición F

VI: *Salmonella* sp de la condición F

6.3. Validación del sistema de disolución

La linealidad del sistema se realizó utilizando dos espectrofotómetros diferentes para leer la absorbancia: el espectrofotómetro HACH-DR 6000 por medio de un método manual y el espectrofotómetro UV-Visible Agilent 8453 con celda de flujo continuo haciéndose por un método automatizado.

6.3.1. Linealidad del sistema de disolución utilizando el espectrofotómetro HACH-DR 6000

En la tabla 13 se muestran los datos de linealidad obtenidos a partir de las absorbancias y el coeficiente de variación presentado en porcentaje (% C. V.). del factor de respuesta para ambas curvas. En las figuras 2 y 3 se muestran las gráficas correspondientes a la linealidad de cada curva realizada con el espectrofotómetro HACH-DR 6000; los resultados obtenidos de absorbancia y de factor de respuesta para cada concentración se muestran en el apéndice B.

Tabla 13: linealidad del sistema de disolución de NTF.

	b	m	r	% C. V.	% Error relativo
Curva A	-0.0005	74.6830	0.9999	0.9067	0.7815
Curva B	0.0044	74.0200	0.9995	1.2788	0.5446

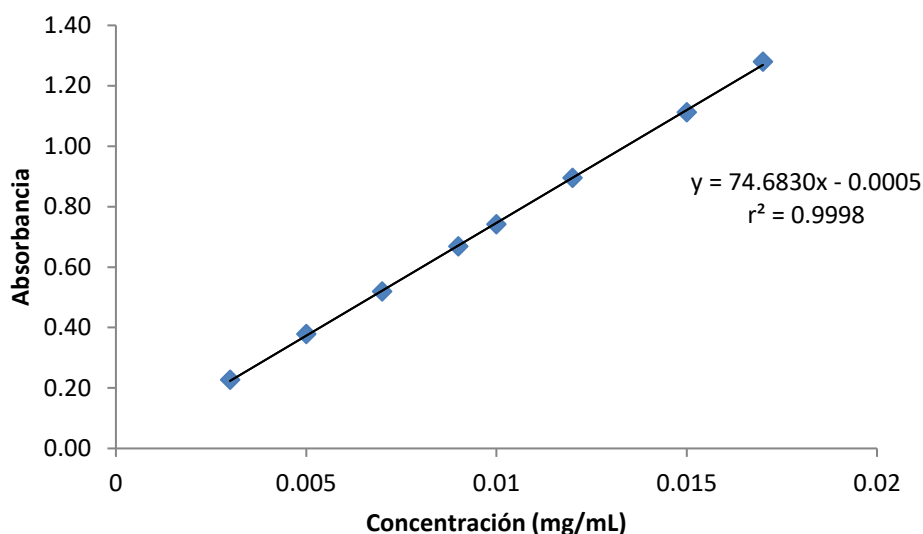


Figura 2: linealidad del sistema de disolución para NTF, curva A.

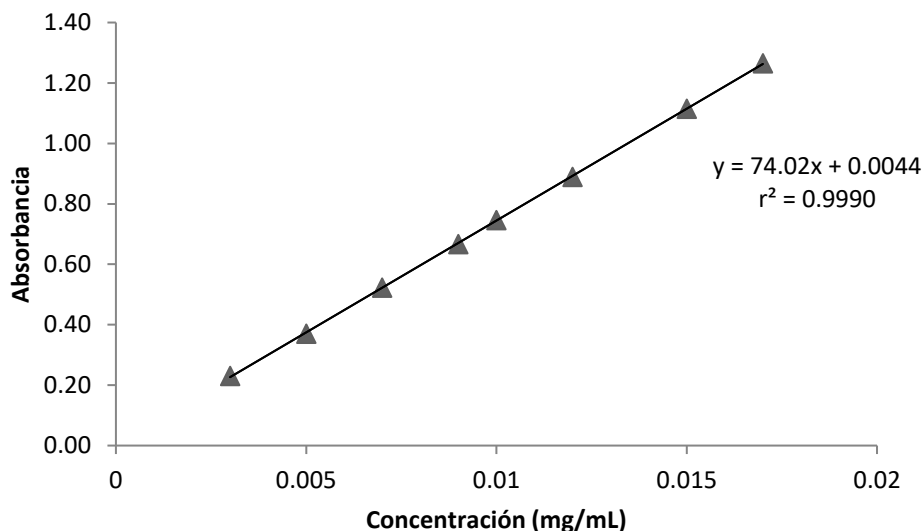


Figura 3: linealidad del sistema de disolución para NTF, curva B.

6.3.2. Linealidad del sistema de disolución utilizando el sistema de muestreo automatizado

En la tabla 14 se muestran los datos de linealidad obtenidos a partir de las absorbancias y el % C. V. del factor de respuesta para ambas curvas. En las figuras 4 y 5 se muestran las gráficas correspondientes a la linealidad de cada curva realizada con el espectrofotómetro UV-Visible con celda de flujo continuo Agilent 8453; los resultados obtenidos de absorbancia y factor de respuesta para cada concentración se muestran en el apéndice C.

Tabla 14: linealidad del sistema de disolución de NTF.

	b	m	R	% C. V.	% Error relativo
Curva A	-0.0002	8.8534	0.9999	0.7976	0.6150
Curva B	0.0007	8.8720	0.9997	1.5755	1.2882

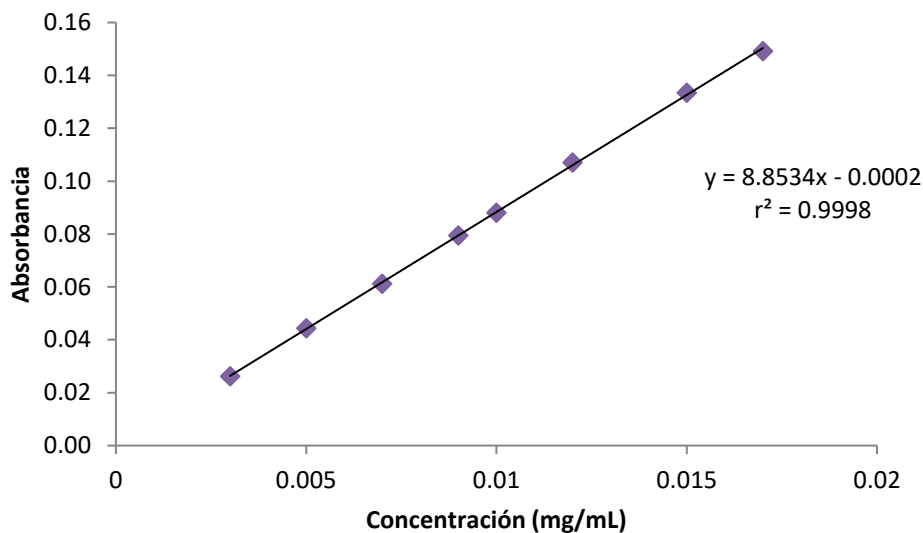


Figura 4: linealidad del sistema de disolución para NTF, curva A.

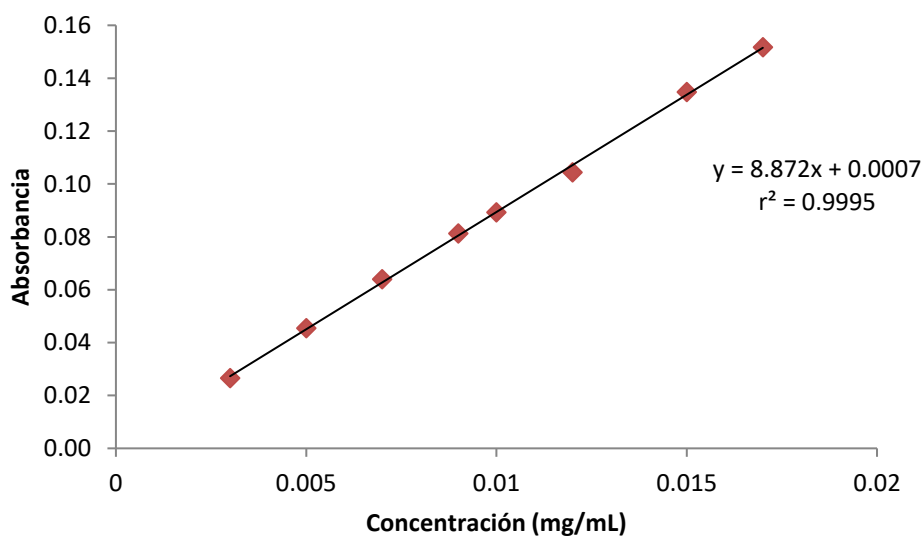


Figura 5: linealidad del sistema de disolución para NTF, curva B.

6.3.3. Precisión del sistema de disolución

La precisión del sistema se realizó calculando la reproducibilidad.

6.3.3.1. Reproducibilidad

En la tabla 15 se muestran los datos del promedio, D.E. y % de C.V. del factor de respuesta para la repetibilidad del sistema, obtenidos a partir de las absorbancias de las tres curvas realizadas con el espectrofotómetro HACH-DR 6000, mientras que en la tabla 16 se muestran los resultados de la curva obtenida para evaluar la

reproducibilidad del sistema (intercepto, pendiente y coeficiente de correlación para cada absorbancia); los resultados obtenidos para cada concentración propuesta se muestran en el apéndice D.

Tabla 15: reproducibilidad del sistema de disolución de NTF.

Concentración (mg/mL)	$\bar{X}$	D. E	%C. V
0.004	0.3097	0.0061	1.9731
0.006	0.4653	0.0035	0.7547
0.008	0.6150	0.0036	0.5863
0.011	0.8493	0.0025	0.2963
0.016	1.2267	0.0047	0.3853

Tabla 16: resultados de las curvas de reproducibilidad.

	Curva A	Curva B	Curva C
r	0.9999	0.9999	0.9999
m	77.3864	75.8750	76.0341
b	-0.0051	0.0103	0.0107

6.4. Perfiles de disolución de medicamentos que contienen Nitrofurantoína.

Los resultados del porcentaje disuelto promedio obtenido, utilizando el aparato 2 para suspensiones con muestreo manual y el aparato 1 para cápsulas y tabletas, se muestran en el siguiente orden: en la tabla 17 y figura 6 para las suspensiones 25 mg/5 mL (20 mL), en la tabla 18 y figura 7 para cápsulas de 100 mg y en la tabla 19 y figura 8 para tabletas de 100 mg.

Los datos del porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo para cada vaso se presentan en los apéndices E y F.

Los datos del porcentaje disuelto promedio utilizando muestreo automatizado se muestran de la siguiente forma: en la tabla 20 y figura 9 para suspensión 25 mg/5 mL (20 mL); tabla 21 y figura 10, cápsulas de 100 mg y tabla 22 y figura 11, tabletas de 100 mg, respectivamente. Utilizando el aparato 1 para tabletas y cápsulas.

El porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo para cada vaso se presentan en los apéndices G y H.

Los resultados obtenidos utilizando el aparato 2 y muestreo automatizado se presentan en la tabla 23 y figura 12 para las cápsulas de 100 mg y en la tabla 24 y figura 13 se presentan los resultados para tabletas de 100 mg.

Los resultados del porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo para cada vaso se presentan en el apéndice I.

6.4.1. Perfil de disolución de suspensiones de Nitrofurantoína 25 mg/5 mL, aparato 2, muestreo manual y velocidad de agitación de 50 rpm

Tabla 17: porcentaje disuelto de suspensiones de NTF de 25 mg/ 5 mL (n=12).

Tiempo (minutos)	$\bar{X}$	D. E	% C. V.	Máximo	Mínimo
3	41.2023	13.3977	32.5170	69.9710	23.2470
5	59.5408	11.9851	20.1292	75.1760	41.7671
10	79.5640	4.7952	6.0268	87.4017	71.7867
15	88.7332	3.3601	3.7867	94.3014	84.1335
30	95.7640	4.5563	4.7578	103.8641	89.2174
45	95.2294	12.0871	12.6926	106.8902	58.1084
60	95.6934	4.5671	4.7726	105.8008	87.7649
90	92.4554	8.4449	9.1341	107.7376	80.3810
120	97.6806	6.4591	6.6125	109.9164	84.2545
180	99.5770	5.1118	5.1335	110.4006	88.7332

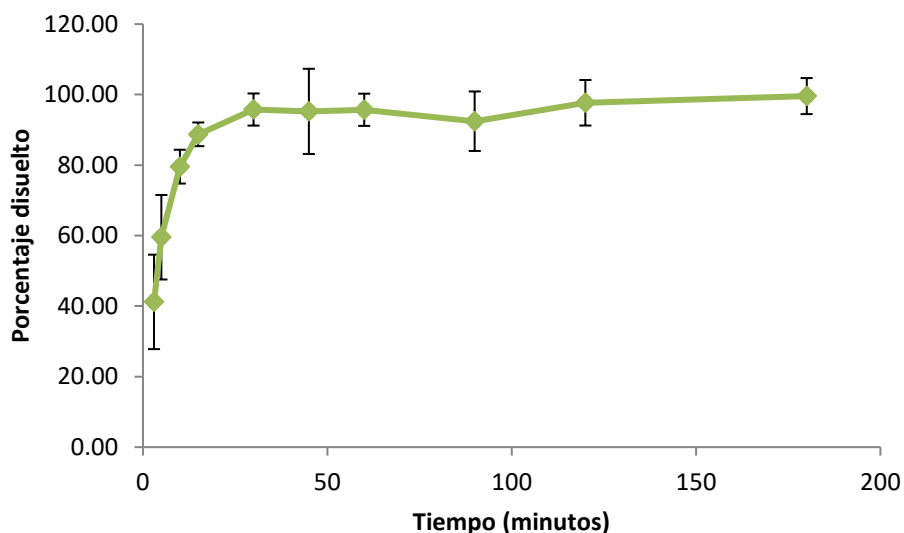


Figura 6: perfil de disolución de suspensiones de NTF de 25 mg/5 mL, porcentaje disuelto promedio ± 1 D. E.

6.4.2. Perfil de disolución de cápsulas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 1, muestreo manual y velocidad de agitación de 100 rpm

Tabla 18: porcentaje disuelto de cápsulas de NTF de 100 mg (n=12).

Tiempo (minutos)	$\bar{X}$	D. E	% C. V.	Máximo	Mínimo
5	6.7544	1.4934	22.1095	9.6898	4.7269
10	12.2116	1.6882	13.8248	15.2579	8.8425
15	16.6500	2.0007	12.0161	19.7367	12.9580
30	22.9444	2.3149	10.0892	25.7890	19.1314
45	29.6120	3.2894	11.1082	36.1990	23.9733
60	35.3416	3.4518	9.7669	42.8566	29.1783
90	41.8680	2.9519	7.0505	45.3985	36.5621
120	48.2028	3.3346	6.9178	52.1772	43.3408
180	55.9397	3.6382	6.5037	60.7715	51.2088

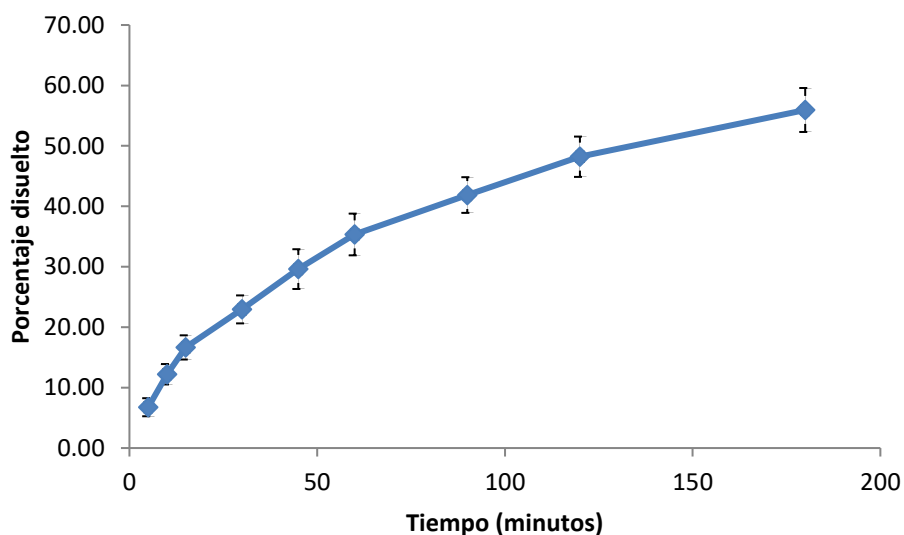


Figura 7: perfil de disolución de cápsulas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio ± 1 D. E.

6.4.3. Perfil de disolución de tabletas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 1, muestreo manual y velocidad de agitación de 100 rpm

Tabla 19: porcentaje disuelto de tabletas de NTF de 100 mg (n=12).

Tiempo (minutos)	$\bar{X}$	D. E	% C. V.	Máximo	Mínimo
15	10.4536	1.0457	10.0036	12.6385	9.4186
30	16.6250	1.5402	9.2646	19.3445	14.7689
45	23.2825	2.1157	9.0872	27.2609	20.8454
60	29.2804	2.3952	8.1803	33.3375	26.2199
90	35.4122	2.6250	7.4127	39.7094	32.2045
120	42.3724	3.0792	7.2670	47.9405	38.4989
180	51.1281	3.1550	6.1707	56.6569	46.3669

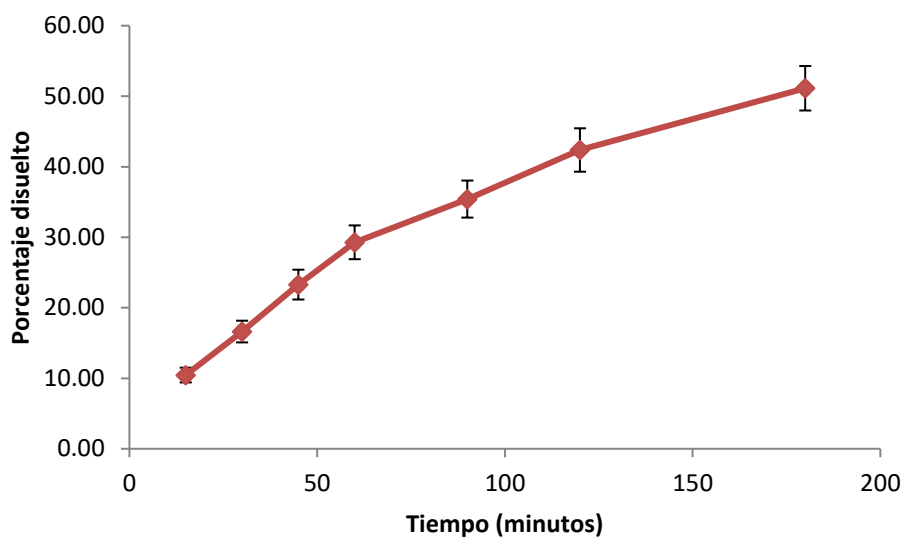


Figura 8: perfil de disolución de tabletas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio ± 1 D. E.

6.4.4. Perfil de disolución de suspensiones de Nitrofurantoína de 25 mg/5 mL, aparato 2, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 50 rpm

Tabla 20: porcentaje disuelto de suspensiones de NTF de 25 mg/ 5 mL (n=12).

Tiempo (minutos)	$\bar{X}$	D. E	% C. V.	Máximo	Mínimo
5	31.8883	7.0911	22.2373	41.4500	19.2300
10	57.4817	10.2651	17.8581	70.4900	41.9300
15	74.2400	9.4161	12.6833	83.1100	58.8500
30	85.7300	1.4094	1.6440	87.5100	82.9400
45	86.2975	1.0679	1.2374	87.6200	84.2500
60	86.4192	1.0273	1.1887	87.7600	84.5100
90	86.5725	1.0276	1.1870	87.8900	84.6600
120	86.6817	1.0100	1.1652	88.1100	84.8100
180	86.7967	1.0872	1.2526	88.5400	84.8400

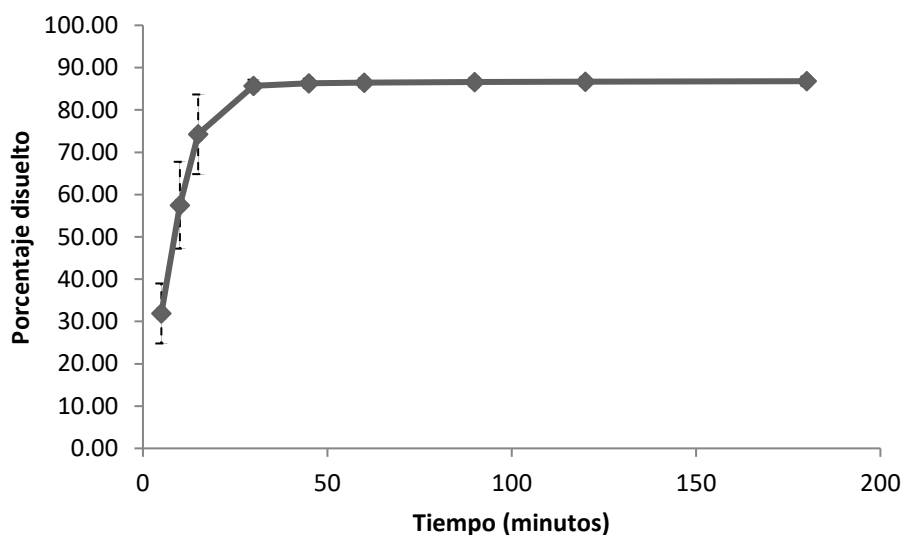


Figura 9: perfil de disolución de suspensiones de NTF de 25 mg/5 mL, porcentaje disuelto promedio ± 1 D. E.

6.4.5. Perfil de disolución de cápsulas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 1, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 100 rpm

Tabla 21: porcentaje disuelto de cápsulas de NTF de 100 mg (n=6).

Tiempo (minutos)	$\bar{X}$	D. E	% C. V.	Máximo	Mínimo
5	6.4785	2.0436	31.5445	9.6370	4.2150
10	11.0483	1.5671	14.1840	13.2700	8.9700
15	13.8367	1.3339	9.6406	15.4000	11.8100
30	18.7200	1.3174	7.0372	19.8600	16.6300
45	22.6583	1.3338	5.8865	24.0600	20.5500
60	26.0783	1.3379	5.1304	27.6600	23.9500
90	31.9450	1.3293	4.1612	33.7100	29.9200
120	37.0083	1.2841	3.4697	38.8000	35.2000
180	45.2133	1.2415	2.7459	46.7700	43.7600

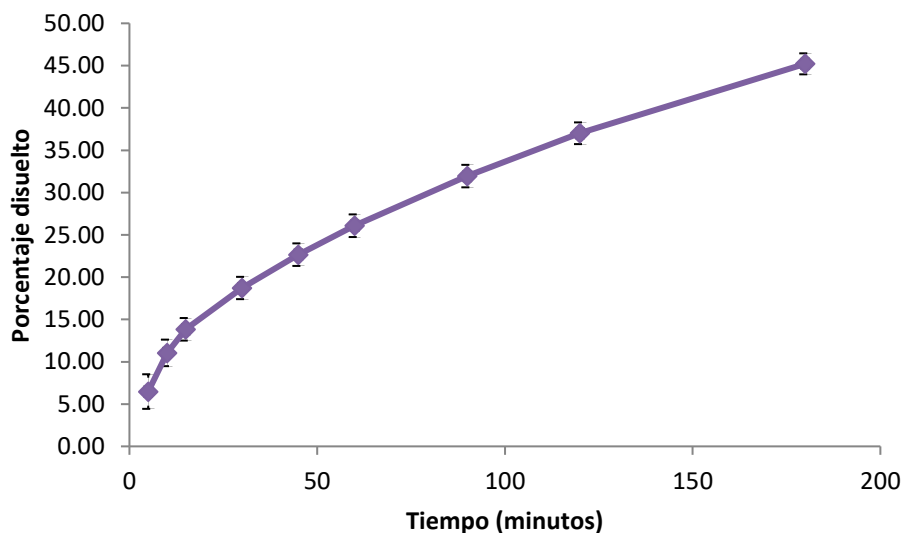


Figura 10: perfil de disolución de cápsulas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio $\pm$ 1 D. E.

6.4.6. Perfil de disolución de tabletas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 1, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 100 rpm

Tabla 22: porcentaje disuelto de tabletas de NTF de 100 mg (n=6).

Tiempo (minutos)	$\bar{X}$	D. E	% C. V.	Máximo	Mínimo
5	3.4960	0.8269	23.6516	4.2750	2.1410
10	6.3115	0.7875	12.4775	7.1470	4.9590
15	8.7295	0.8275	9.4790	9.5370	7.3250
30	14.7233	1.0136	6.8845	16.1900	13.2900
45	19.6450	1.2063	6.1405	21.4800	18.1300
60	23.8667	1.3848	5.8022	26.0500	22.3300
90	30.6733	1.6539	5.3918	33.2500	28.9900
120	36.0183	1.8150	5.0392	38.7400	33.9700
180	43.9600	1.7844	4.0591	46.4500	41.7100

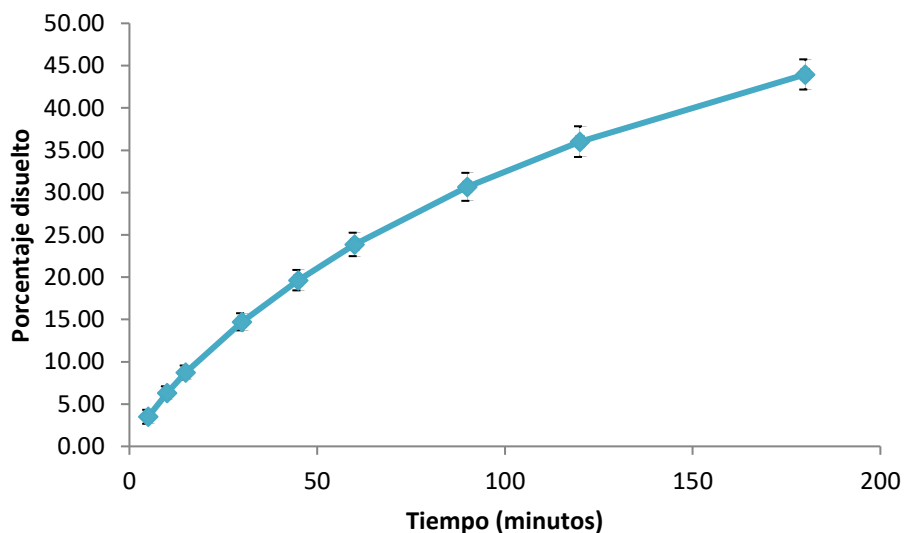


Figura 11: perfil de disolución de tabletas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio ± 1 D. E.

6.4.7. Perfil de disolución de cápsulas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 2, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 75 rpm

Tabla 23: porcentaje disuelto de cápsulas de NTF de 100 mg (n=6).

Tiempo (minutos)	$\bar{X}$	D. E	% C. V.	Máximo	Mínimo
5	3.1832	1.7678	55.5331	6.0570	0.8144
10	9.9205	3.3951	34.2235	14.7400	6.9570
15	13.7408	3.2876	23.9255	17.9000	9.6850
30	17.0017	3.4551	20.3223	21.5000	13.0900
45	18.8967	3.7322	19.7503	24.0700	15.3700
60	20.6000	3.8708	18.7904	26.2900	17.3600
90	23.6367	3.9057	16.5239	29.8200	20.1500
120	26.2333	3.9886	15.2045	32.6800	21.7900
180	30.2850	4.2136	13.9130	36.9200	24.2000

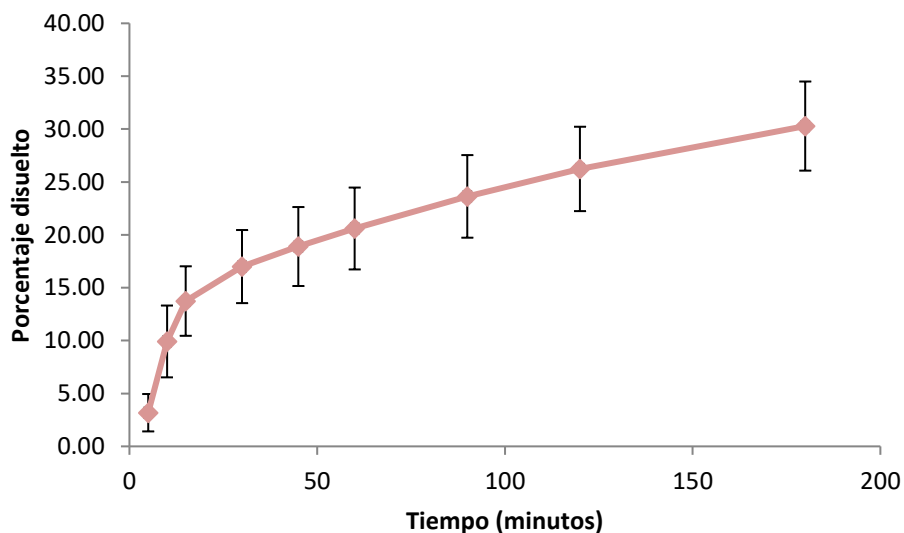


Figura 12: perfil de disolución de cápsulas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio ± 1 D. E.

6.4.8. Perfil de disolución de tabletas de Nitrofurantoína de 100 mg, aparato 2, muestreo automatizado y velocidad de agitación de 75 rpm

Tabla 24: porcentaje disuelto de tabletas de NTF de 100 mg (n=6).

Tiempo (minutos)	$\bar{X}$	D. E	% C. V.	Máximo	Mínimo
5	4.2045	0.8895	21.1569	4.9980	3.0540
10	7.9322	0.6724	8.4769	8.5070	6.7300
15	10.4122	0.9174	8.8106	11.4900	8.9430
30	15.9767	1.0050	6.2904	17.2400	14.7800
45	20.1133	1.1610	5.7724	21.3900	18.5300
60	23.6567	1.2867	5.4390	24.8500	21.7900
90	29.0950	1.6770	5.5921	30.6600	26.9100
120	33.6750	2.6516	7.8742	36.9600	29.8900
180	39.5233	3.9017	9.8719	45.5700	34.3700

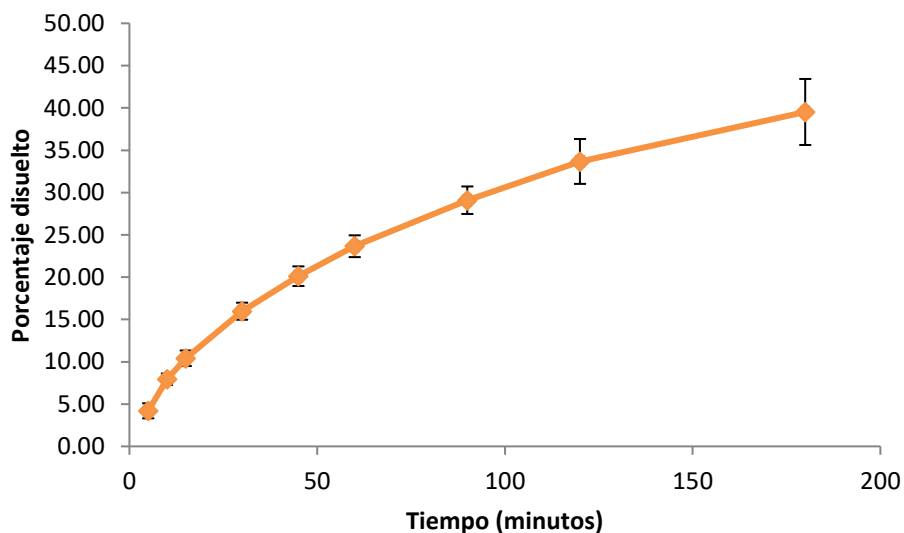


Figura 13: perfil de disolución de tabletas de NTF de 100 mg, porcentaje disuelto promedio ± 1 D. E.

Capítulo VII

Análisis de resultados

VII. Análisis de resultados

Como en la FEUM 10ma edición sólo se maneja la prueba de disolución para las cápsulas y tabletas de NTF pero no para la suspensión; además de no presentarse propuestas para la elaboración de perfiles de disolución de formas farmacéuticas que contienen NTF. Se tomaron los tiempos para hacer el perfil de disolución de los propuestos por la FDA, además de proponer otros tiempos para poder observar mejor la disolución de las diferentes formas farmacéuticas. Los perfiles de disolución se realizaron utilizando muestreo manual y automatizado, omitiendo para este último el tiempo de muestreo de 3 minutos ya que no se tiene contemplado en el programa; también se evaluó la diferencia de la disolución utilizando el aparato 1 y 2 (para cápsulas y tabletas).

7.1. Control de calidad

De los 11 frascos de suspensión de NTF comprados se utilizaron sólo 10 para realizar la prueba de variación de volumen, una vez realizada, la suspensión se utilizó para los ensayos de identidad, potenciometría o disolución mientras que el frasco 11 se reservó para la prueba de límites microbianos.

7.1.1. Variación de volumen

En el punto 6.2.1 del capítulo VI, se presentan los resultados del volumen de 10 frascos de suspensión de NTF, la FEUM indica que el volumen promedio de los 10 envases no debe ser menor a lo declarado en el marbete y el volumen de ningún frasco debe ser menor al 95% de lo declarado, gracias a los datos se puede calcular el volumen promedio que es de 120.5 mL con lo cual las suspensiones aprueban este estudio (49).

7.1.2. Potenciometría

En el punto 6.2.2 del capítulo VI, se muestran los valores de pH obtenidos de 3 suspensiones de NTF, presentando un valor de pH promedio de 4.89 el cual está dentro del rango de pH que marca la FEUM para la suspensión de NTF que es de 4.5 a 6.5 (49), (48).

7.1.3. Ensayo de identidad de NTF

En el apéndice A se muestran los espectros de transmitancia obtenidos de la identificación del principio activo (estándar, suspensiones, cápsulas y tabletas), en la tabla 25 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 25: *transmitancia de muestras de nitrofurantoína.*

Muestra	Trasmitancia (cm ⁻¹)					
Estándar	3281.02	1778.32	1725	1518.34	1518	1350
Suspensión	3283.67	1778.11	1726.33	1560	1528.51	1379.89
Cápsulas	3283.19	1780	1722.09	1561.84	1519.14	1378.84
Tabletas	3282.38	1770	1722.04	1608.95	1519.07	1378.67

En los espectros de infrarrojo se puede observar la presencia del grupo nitro con frecuencia entre la región de 1600 a 1530 cm⁻¹ y 1390 a 1300 cm⁻¹, la presencia de banda entre 3500 a 3100 cm⁻¹ ayuda identificar el enlace entre nitrógeno e hidrógeno; por otra parte las bandas entre 1640 a 1550 cm⁻¹ señalan la presencia de una amina secundaria, bandas en las regiones de 1350-1000 cm⁻¹ se pueden identificar como enlaces entre carbono y nitrógeno, sin embargo, en la región de 1300-1000 cm⁻¹ también se pueden identificar enlaces sencillos entre carbono y oxígeno propios de éteres y gracias a la ausencia de bandas en las regiones de 3650-3300 cm⁻¹ se puede descartar la presencia de grupos hidroxilos propios de alcoholes y ácidos carboxílicos que también presentan bandas en las regiones de los éteres. El grupo carbonilo se puede ver entre 1820 a 1660 cm⁻¹ y las bandas entre 1725 a 1705 cm⁻¹ muestran la presencia de cetona (71), (72), (87).

7.1.4. Límites microbianos

Como no se logró conseguir el crecimiento de las bacterias se tuvo que llegar hasta la filtración; con el producto que se obtuvo se procedió a repetir las condiciones sugeridas por la FEUM, una vez que se inocularon todos los tubos por 72 horas (ya que no se veían cambios en los tubos), se pasó a caja petri con TSA debido a que la coloración no permitía ver crecimiento a simple vista, se realizó por dos métodos: extendido en superficie y vaciado en placa, los resultados entre ambos métodos de sembrado fueron diferentes debido a que en el extendido el tubo que tenía 50% más de TSB mostró crecimiento para la muestra que contenía *E. coli* y el tubo control, mientras que en el otro se observó crecimiento en el tubo que tenía el doble de TSB y tween mostrando crecimiento el tubo que se inoculó con *Salmonella* y el de *E. coli*, sin embargo, en la caja petri de *E. coli* se tenían 3 tipos de colonias diferentes. No se hicieron pruebas bioquímicas de la placa control por ser grampositivos.

Se volvió a repetir la prueba filtrándose dos veces la muestra, para poder eliminar la mayor cantidad de excipientes de la suspensión, después se realizaron las condiciones para la recuperación de los microorganismos por medio del vaciado en placa pero utilizando medio TSA y agar nutritivo; mostrando sólo crecimiento en la cuarta condición con el doble de TSB para los tubos que se inocularon con

Salmonella, sin embargo, no fue posible recuperar el microorganismo debido al tiempo que se dejó incubando en presencia de la nitrofurantoína.

7.2. Validación del sistema de disolución

La curva de calibración se realizó utilizando 8 soluciones de concentración conocida que van de 3 a 17 μmL , éstas se hicieron por duplicado, además de medirse en diferentes espectrofotómetros con celdas de diferente longitud (1 cm y 0.1 cm) de paso óptico, obteniéndose por lo tanto resultados 10 veces menores con el equipo que utiliza celda de paso óptico pequeño.

7.2.1. Linealidad

Los resultados de linealidad obtenidos se presentan en las tablas 13 y 14 medidos con diferentes equipos, los coeficientes de regresión obtenidos para cada curva fueron mayores de 0.99 y presentaron un error relativo menor del 2%.

7.2.2. Precisión

En cuanto a la precisión, se observa un coeficiente de variación del factor de respuesta menor de 2% (tabla 15) por lo que de acuerdo a la NOM- 177-SSA1-2013 (55), el sistema de disolución cumple con el criterio de precisión.

7.3. Estudio de perfiles de disolución

Los perfiles de disolución de las suspensiones de NTF se realizaron utilizando el aparato 2 a 50 rpm, mientras que los perfiles de disolución para cápsulas y tabletas de NTF se realizaron utilizando los aparatos farmacopéicos 1 y 2 a 100 y 75 rpm respectivamente, con el propósito de observar diferencias en la disolución (56), (64), (65), (88). Todos los perfiles de disolución fueron obtenidos hasta los 180 minutos, utilizando tanto el muestreo manual con el cual se analizaron 12 unidades de cada producto; como el automatizado, analizando 12 unidades para la suspensión y 6 para cápsulas y tabletas. En la figura 14 se presentan los perfiles de disolución obtenidos de las formas farmacéuticas de NTF, observándose que es mayor con muestreo manual que con el muestreo automatizado, además el porcentaje disuelto de suspensiones, sin importar qué tipo de muestreo se emplee es mayor que el que presentan cápsulas y tabletas de NTF.

7.3.1. Suspensión de nitrofurantoína

Con el muestreo manual las suspensiones presentan un porcentaje disuelto a los 15 minutos de 88.7332% y con el muestreo automatizado de 74.2400%, esto puede que se deba a la cantidad que se toma con la jeringa al momento de tomar la muestra del vaso, lo cual no puede ser exacto a comparación del muestreo automatizado. Como por el momento no se cuenta con especificaciones en la

FEUM sobre la cantidad de ingrediente activo disuelto (Q) que se debe esperar a los 15 minutos (14).

7.3.2. Cápsulas de nitrofurantoína

Los resultados obtenidos de Q para las cápsulas de NTF se muestran en la tabla 26.

Tabla 26: resultados de Q para cápsulas de NTF.

Aparato	60 minutos	180 minutos	Tipo de muestreo
1	35.3416	55.9397	Manual
	26.0783	45.2133	Automatizado
2	20.6000	30.2850	

El valor de Q que marca la FEUM a los 60 minutos es de 20 a 60% y de no menos del 45% a los 180 minutos, se presenta un criterio aceptable para los tres análisis a los 60 minutos, más para la disolución a los 180 minutos sólo cumple con el criterio de aceptación las disoluciones realizadas con el aparato 1 y no la realizada con el aparato 2.

7.3.3. Tabletas de nitrofurantoína

Los resultados de Q para las tabletas a los 60, 120 y 180 minutos se muestran en la tabla 27.

Tabla 27: resultados de Q para tabletas de NTF.

Aparato	60 minutos	120 minutos	Tipo de muestro
1	29.2804	42.3724	Manual
	23.8667	36.0183	Automatizado
2	23.6567	33.6750	

El resultado que se esperaba es de 25% a los 60 minutos y de 85% a los 120 minutos, sólo se logra a los 60 minutos con el aparato 1, sin embargo, no se logra un valor de Q de 85% a los 120 minutos. Esto puede deberse a que se presenta aglomeración de la preparación debida probablemente a la forma de almacenamiento (condiciones de temperatura y humedad en que se encuentre) del medicamento, lo cual afectará la velocidad de disolución y la biodisponibilidad en pacientes (27).

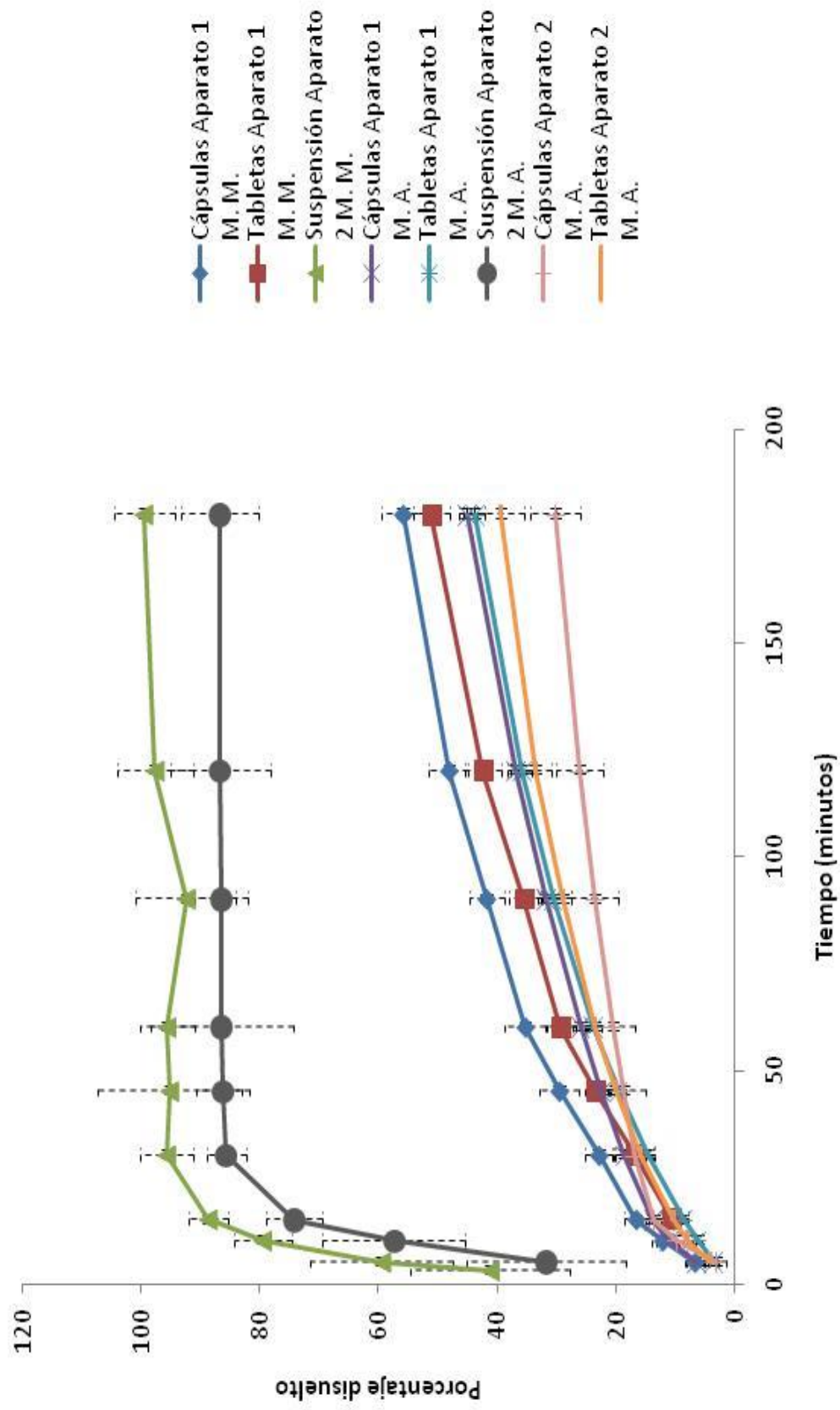


Figura 14: perfiles de disolución de NTF contenida en 3 diferentes, formas farmacéuticas, utilizando muestreo manual (M. M.) y automatizado (M. A.), porcentaje disuelto promedio ± 1 D. E.

7.4. Caracterización de la disolución de formas farmacéuticas de NTF

La caracterización de la disolución se realizó por métodos modelo dependiente e independiente.

7.4.1. Caracterización de la disolución de formas farmacéuticas de NTF, modelo independiente

La caracterización por métodos de modelo independiente se realizó con ABC, % EF, TMD, $t_{x \min}$ y f_2 .

Tabla 28: resultados obtenidos de caracterizar la velocidad de disolución, métodos modelo independiente.

Tipo de muestreo	Aparato	Producto	ABC	% EF	TMD	$t_{15\min}$	$t_{60\min}$	$t_{120\min}$	$t_{180\min}$
Manual	2	Suspensiones	16771.1521	93.5689	11.5760	88.7332	95.6934	97.6806	99.5770
	1	Cápsulas	6948.2190	69.0050	55.7909	16.6500	35.3416	48.2028	55.9397
		Tabletas	5917.1925	64.2959	64.2673	10.4536	29.2804	42.3724	51.1281
Automatizado	2	Suspensiones	14815.8470	94.8311	9.3040	74.2400	86.4192	86.6817	86.7967
		Cápsulas	4003.0520	73.4330	47.8206	13.7408	20.6000	26.2333	30.2850
		Tabletas	4812.3553	67.6444	58.2400	10.4122	23.6567	33.6750	39.5233
	1	Cápsulas	5413.5598	66.5188	60.2662	13.8367	26.0783	37.0083	45.2133
		Tabletas	5048.6803	63.8040	65.1529	8.7295	23.8667	36.0183	43.9600

Como se puede apreciar en la tabla 28 las suspensiones presentan un % EF por encima del 90%, la suspensión utilizando el muestreo automatizado presenta una mejor eficiencia y menor tiempo de disolución que con el muestreo manual.

Las cápsulas y tabletas presentan valores de % EF entre 63-73 %, esto sucede por no haberse disuelto como mínimo el 90 % de la forma farmacéutica. En cuanto al TMD los valores obtenidos están entre los 47-65 minutos. Comparado con el TMD de las suspensiones se puede apreciar cómo se tiene una menor liberación del principio activo de las formulas sólidas.

Tabla 29: perfiles de disolución de las formas farmacéuticas de NTF.

Tipo de muestreo	Aparato	Producto de referencia	Producto de prueba	f_2
Manual	2	Suspensiones	Cápsulas	9.4864
			Tabletas	X
	1	Cápsulas	Suspensiones	9.4864
			Tabletas	60.7133
		Tabletas	Suspensiones	X
			Cápsulas	60.7133
Automatizado	2	Suspensiones	Cápsulas	18.7384
			Tabletas	18.3858
		Cápsulas	Suspensiones	12.3593
			Tabletas	65.9322
		Tabletas	Suspensiones	12.0067
			Cápsulas	65.9322
		Suspensiones	Cápsulas	13.0752
			Tabletas	11.5825
	1	Cápsulas	Suspensiones	13.0752
			Tabletas	73.7988
		Tabletas	Suspensiones	11.5825
			Cápsulas	73.7988

En la tabla 29 se presentan los resultados de f_2 de los medicamentos según el muestreo y aparato utilizado. Como se observa en la tabla y en la figura 14 las suspensiones de NTF presentan perfiles de disolución que no pueden compararse con las cápsulas y tabletas de NTF, por ese motivo el factor de f_2 se encuentra por debajo de los rangos deseados para cada uno. Por otro lado, al evaluar las cápsulas y tabletas utilizando muestreo manual se observa que es mayor que 50 por lo que dichos perfiles son similares; lo mismo sucede cuando se aplica el factor f_2 para comparar el muestreo automatizado con el aparato 1 y 2.

En las tablas de la 30 a la 32 se evalúa f_2 para la misma forma farmacéutica utilizando diferente aparato y/o tipo de muestreo.

Tabla 30: comparación de suspensiones de NTF utilizando diferente tipo de muestreo.

Aparato	Tipo de muestreo	f_2	Tipo de muestreo	Aparato
2	Manual	58.5758	Automatizado	2
	Automatizado	58.5758	Manual	

Tabla 31: comparación de cápsulas de NTF utilizando diferente tipo de muestreo y/o aparato.

Tipo de muestreo	Aparato	f_2	Aparato	Tipo de muestreo
Manual	1	56.1841	1	Automatizado
		42.0246	2	Automatizado
Automatizado		56.1841	1	Manual
			56.9104	2
	2	42.0246	1	Manual
		56.9104	1	Automatizado

Tabla 32: comparación de tabletas de NTF utilizando diferente tipo de muestreo y/o aparato.

Tipo de muestreo	Aparato	f_2	Aparato	Tipo de muestreo
Manual	1	65.3445	1	Automatizado
		59.2243	2	Automatizado
Automatizado		65.3445	1	Manual
			82.6567	2
	2	59.2243	1	Manual
		82.6567	1	Automatizado

Con base en los resultados de f_2 para las suspensiones, que se muestran en la tabla 30, los perfiles obtenidos con diferente tipo de muestreo son similares, por lo tanto, se puede usar el muestreo manual o el automatizado, indistintamente.

En la tabla 31 los resultados de f_2 demuestran similitud para las cápsulas entre los perfiles donde se utiliza el mismo aparato y diferente tipo de muestreo o mismo aparato y tipo de muestreo, contra el perfil donde se utiliza diferente aparato y diferente tipo de muestreo. Sucede algo similar para las tabletas como lo demuestra el valor de f_2 en la tabla 32, en donde se observa que los perfiles son similares y el valor se ve disminuido cuando el tipo de muestreo y el aparato son diferentes.

7.4.2. Caracterización de la disolución de formas farmacéuticas de NTF, modelo dependiente

Se utilizaron los modelos de orden cero, primer orden, Hixson-Crowell, Higuchi, función Weibull, Logístico, Gompertz y cuadrático; y se analizaron para las disoluciones realizadas por el aparato 1 (muestreo manual y automatizado) y 2 (muestreo automatizado). Los datos se presentan en las tablas desde la 33 hasta la 40.

Tabla 33: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a suspensiones, aparato 2, muestreo manual.

	Orden cero	Primer orden	Hixson- Crowell	Higuchi	Weibull	Logístico	Gompertz	Cuadrático
m	3.7852	-0.1384	0.1359	21.8496	0.8759	-0.1976	-0.1658	9.8187
b	36.0321	4.4263	0.4564	7.1547	-1.5529	0.7477	0.2563	16.2675
a								-0.3344
r²	0.9200	0.9950	0.9791	0.9651	0.9962	0.9719	0.9853	0.9918
r	0.9592	0.9975	0.9895	0.9824	0.9981	0.9858	0.9926	0.9959
AIC	20.7338	-15.1660	-11.5138	19.4117	-17.6147	-5.2871	-9.3416	15.5991

Tabla 34: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a cápsulas, aparato 1, muestreo manual.

	Orden cero	Primer orden	Hixson- Crowell	Higuchi	Weibull	Logístico	Gompertz	Cuadrático
m	0.2740	-0.0154	0.0189	4.4500	0.8210	-0.0298	-0.0215	0.5371
b	13.0522	3.9485	0.0042	-1.2328	-3.3435	1.5092	0.6146	7.1527
a								-0.0015
r²	0.9156	0.9954	0.9532	0.9921	0.9946	0.9362	0.9807	0.9898
r	0.9569	0.9977	0.9763	0.9960	0.9973	0.9676	0.9903	0.9949
AIC	49.2509	-30.7424	-4.5571	29.9043	-23.5612	1.2927	-13.9019	34.2457

Tabla 35: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a tabletas, aparato 1, muestreo manual.

	Orden cero	Primer orden	Hixson- Crowell	Higuchi	Weibull	Logístico	Gompertz	Cuadrático
m	0.2424	-0.0144	0.0195	4.3477	0.9792	-0.0268	-0.0197	0.4492
b	11.0932	3.9602	-0.2420	-6.0204	-4.1914	1.5365	0.6982	4.5475
a								-0.0011
r²	0.9512	0.9912	0.9327	0.9950	0.9933	0.9757	0.9928	0.9959
r	0.9753	0.9956	0.9658	0.9975	0.9966	0.9878	0.9964	0.9979
AIC	30.6871	-21.5695	-2.1291	16.7381	-19.9399	-7.9398	-18.9551	19.0437

Tabla 36: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a suspensiones, aparato 2, muestreo automatizado.

	Orden cero	Primer orden	Hixson- Crowell	Higuchi	Weibull	Logístico	Gompertz	Cuadrático
m	1.1727	-0.1239	0.0752	11.5106	1.1428	-0.1437	-0.1331	4.5522
b	42.5014	4.4577	0.6441	17.7313	-2.5441	0.7286	0.3368	15.5158
a								-0.0672
r²	0.7010	0.9594	0.8992	0.8156	0.9841	0.9405	0.9523	0.9516
r	0.8373	0.9795	0.9483	0.9031	0.9920	0.9698	0.9759	0.9755
AIC	34.2091	2.1757	0.0562	33.7919	-9.7288	5.6741	3.7383	29.1070

Tabla 37: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a cápsulas, aparato 1, muestreo automatizado.

	Orden cero	Primer orden	Hixson- Crowell	Higuchi	Weibull	Logístico	Gompertz	Cuadrático
m	0.2111	-0.0127	0.0170	3.3783	0.7096	-0.0255	-0.0181	0.3567
b	10.6456	3.6803	-0.0010	-0.0059	-2.9820	1.3673	0.5278	7.3822
a								-0.0008
r²	0.9495	0.9945	0.9204	0.9985	0.9911	0.9384	0.9791	0.9891
r	0.9744	0.9972	0.9594	0.9992	0.9955	0.9687	0.9895	0.9945
AIC	39.6135	-32.3752	-1.3840	9.9396	-21.8922	-1.5021	-15.9113	30.6436

Tabla 38: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a tabletas, aparato 1, muestreo automatizado.

	Orden cero	Primer orden	Hixson- Crowell	Higuchi	Weibull	Logístico	Gompertz	Cuadrático
m	0.2326	-0.0138	0.0177	3.7206	0.9359	-0.0317	-0.0210	0.4072
b	6.4836	3.7863	-0.1313	-5.2442	-4.0347	1.9861	0.8387	2.5673
a								-0.0010
r²	0.9502	0.9962	0.9356	0.9988	0.9978	0.9356	0.9853	0.9973
r	0.9748	0.9981	0.9673	0.9994	0.9989	0.9673	0.9926	0.9986
AIC	41.2252	-34.0479	-2.6833	9.3826	-28.7868	2.3625	-16.3981	19.1273

Tabla 39: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a cápsulas, aparato 2, muestreo automatizado.

	Orden cero	Primer orden	Hixson- Crowell	Higuchi	Weibull	Logístico	Gompertz	Cuadrático
m	0.1293	-0.0147	0.0145	2.1519	0.7853	-0.0270	-0.0199	0.2777
b	10.1937	3.1508	0.1654	3.0883	-2.9954	1.0647	0.3187	6.8656
a								-0.0008
r²	0.8198	0.9666	0.9355	0.9328	0.9201	0.7944	0.8945	0.9147
r	0.9054	0.9832	0.9672	0.9658	0.9592	0.8913	0.9458	0.9564
AIC	43.5579	-15.4433	-6.2354	36.6784	-2.1326	10.3847	-0.7871	41.4022

Tabla 40: resultados obtenidos para las distintas cinéticas de liberación correspondientes a tabletas, aparato 2, muestreo automatizado.

	Orden cero	Primer orden	Hixson- Crowell	Higuchi	Weibull	Logístico	Gompertz	Cuadrático
m	0.1979	-0.0150	0.0170	3.2018	0.8524	-0.0302	-0.0213	0.3767
b	8.3084	3.6243	-0.0326	-1.9244	-3.5268	1.6322	0.6748	4.2993
a								-0.0010
r²	0.9257	0.9955	0.9490	0.9956	0.9963	0.9339	0.9815	0.9921
r	0.9621	0.9977	0.9742	0.9978	0.9981	0.9664	0.9907	0.9960
AIC	42.1526	-31.4497	-5.7498	18.7693	-26.1088	1.8465	-14.3016	26.6510

Como se puede observar en el concentrado de datos de las tablas de la 33 y 36, basándose en los valores de r y r^2 la función de Weibull parece ser la ideal para caracterizar la disolución de suspensiones para los dos tipos de muestreo, seguido del modelo de primer orden.

Considerando el AIC, que es un parámetro más discriminativo de modelos (61), (67), se puede ver que para las suspensiones de NTF los modelos que mejor describen la liberación de NTF son: la función de Weibull, el cual no considera factores fisicoquímicos, también el modelo de primer orden, esto podría ser por la interacción del medio de disolución con el fármaco (61), (89), (90), esto es con ambos tipos de muestreo.

En cambio, para capsulas y tabletas, utilizando los r y r^2 se muestran diferentes modelos como ideales para describir la disolución.

Por otro lado, según el AIC el modelo que mejor describe la disolución es el modelo de primer orden seguido de la función de Weibull (89), (90), (91), (92).

Capítulo VIII

Conclusiones

VIII. Conclusiones

- 1) Las suspensiones de nitrofurantoína cumplieron con las pruebas de control de calidad.
- 2) Se logró validar con los criterios de linealidad y precisión el sistema de disolución para la obtención de los perfiles de nitrofurantoína.
- 3) De acuerdo con los resultados de los factores de similitud, los perfiles de disolución no son similares entre suspensiones comparando con cápsulas y tabletas de nitrofurantoína, pero si presentan similitud entre sí los perfiles de cápsulas y tabletas.
- 4) Los métodos modelo independiente muestran que las suspensiones presentan un menor tiempo medio de disolución y un mayor porcentaje en la eficiencia de la disolución, después se encuentran las cápsulas y por último las tabletas. Los modelos que mejor describen la liberación del fármaco según el criterio de información de Akaike son: función de Weibull y modelo de primer orden para suspensiones de nitrofurantoína utilizando ambos tipos de muestro; para las cápsulas y tabletas, utilizando también este parámetro discriminativo, los modelos que mejor explican el proceso de disolución son: modelo de primer orden y función Weibull.
- 5) La metodología desarrollada para la obtención de perfiles de disolución de suspensiones comerciales de nitrofurantoína (25 mg/5 mL), considera la utilización del aparato 2 (paletas), agitación a 50 rpm con tiempos de muestreo de 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos, utilizando como medio de disolución una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2; puede ser utilizando tanto muestro manual como automatizado y en ambos casos, la lectura de absorbancias de las muestras se realiza a 375 nm. Dicha metodología permitirá describir la liberación de nitrofurantoína y será de utilidad tanto en el ámbito industrial como docente.

Capítulo IX

Referencias bibliográficas

IX. Referencias bibliográficas

1. Olalde Carmona, R., López Hernández, J., Vázquez García, Ma. J., y Huerta Romano, F. (2011). Infección de vías urinarias en niños con insuficiencia renal crónica estadios 3, 4 y 5. Prevalencia y diagnóstico. *Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 16(3),139-145
2. Gómez, M., Monasterios, M., y Medina, O. (2010). Estudio preliminar para la cuantificación de Nitrofurantoína en suero humano por cromatografía líquida de alta resolución. *Facultad de Farmacia*, 73(2), 29-36.
3. Walter, A. M., y Heilmeyer, L. (1958). Sinopsis de las infecciones quirúrgicas. En *Manual de antibióticos y quimioterápicos en la terapia moderna. Su uso en cirugía, medicina y especialidades* (p. 520) Madrid, España: Praxis, S.A.
4. TARASCON (2009). Antimicrobianos. En *Farmacopea de bolsillo* (p. 89). D. F.: Mc Graw Hill.
5. PLM: México Líder en información sobre Ciencias de la Salud. (2014). Citado el 19 de Junio de 2015. PLM. Recuperado de: file:///C:/Users/usuario/Desktop/libros/libros%20df/plm/productos/macrodantina_capsulas.htm.
6. PLM: México Líder en información sobre Ciencias de la Salud. (2014). Citado el 14 de Mayo de 2014. PLM. Recuperado de: file:///C:/Users/usuario/Desktop/libros/libros%20df/plm/productos/macrodantina_infantil_suspension.htm.
7. Annex 1: 19th WHO Model List of Essential Medicines. (2015). Citado el 30 de Julio de 2015. WHO. Recuperado de: http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/EML2015_8-May-15.pdf?ua=1.
8. Annex 2: 5th WHO Model List of Essential Medicines for Children. (2015). Citado el 30 de Julio de 2015. WHO. Recuperado de: http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/EMLc2015_8-May-15.pdf?ua=1.
9. Gitting, S., Turnbull, N., Roberts, C. J. & Gershikovish, P. (Enero 2014). Dissolution methodology for taste masked oral dosage forms. *Journal of Controlled Release*, 173, 32-42.

10. Anand, O., Yu, L. X., Conner, D. P. & Davit, B. M. (Septiembre 2011). Dissolution Testing for Generic Drug: An FDA Perspective. *The AAPS Journal*, 13(3), 328-335.
11. Jung Cook, H., De Anda Jáuregui, G., Rubio Carrasco, K. y Mayet Cruz, L. (2012). Comparación de perfiles de disolución. Impacto de los criterios de diferentes agencias regulatorias en el cálculo de f_2 . *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 43(3), 67-71.
12. Azarmi, S., Roa, W. & Löbenberg, R. (Enero 2007). Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics*, 328(1), 12-21.
13. Ministerio de salud. (2006). *Bioequivalencia: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica*. Perú: DIGEMID.
14. Bates, T. R., Young, J. M., Wu, C. M. & Rosenberg, H. A. (1974). pH-dependent dissolution rate of nitrofurantoin from commercial suspensions, tablets, and capsules. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 63(4), 643-645.
15. Katzung, B. G., Masters, S. B. y Trevor, A. J. (2010). Fármacos quimioterapéuticos. En *Farmacología básica y clínica* (p. 878) .Madrid: Mc Graww Hill.
16. Breu, F. X., Guggenbichler, S. y Wollmann, J. C. (2008). *Prevención, diagnóstico y tratamiento de la infección de vías urinarias no complicada en menores de 18 años en el primer y segundo nivel de atención*. México: Secretaria de Salud.
17. Secretaria de Salud. (2000). *Infección de vías urinarias*. México: Práctica médica efectiva.
18. Guías diagnósticas de consulta externa: Infecciones de vías urinarias. (s. f.) Citado el 26 de Mayo de 2014. Recuperado de: http://www.hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/area_medica/consul_exter/guias_urinarias.pdf.
19. Rule, Roberto. (s. f.). *Farmacocinética de los Antibióticos* en CIMEFF. Citado el 24 de Mayo de 2014. Recuperado de: <http://www.femeba.org.ar/fundacion/>.
20. Rodríguez Palomares, C. y Obrador Vera, G. T. (2013). Antibióticos fluoroquinolonas, quinolonas y antisépticos urinarios. En *Fichero farmacológico* (pp. 129-130). D.F.: Mc Graw Hill.

21. Burton, L., Chabner, B. y Knollman, B. (2012). Sulfonamidas, trimetoprim-sulfametoxazol, quinolonas y fármacos para infecciones de vías urinarias. En *Goodman & Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica* (pp.1474-1475). Madrid: Mc Graw Hill.
22. Camacho Assef, V. J. (s. f.). *Los antimicrobianos en la práctica médica*. Citado el 30 de Mayo de 2014. Recuperado de: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/urgencia/antibioticos.pdf>.
23. Berrs, M. H. y Berkow, R. (1999). Enfermedades Infecciosas. En *El Manual Merck de diagnóstico y tratamiento* (p.1125). Madrid: Harcourt.
24. González C., E., Carranza V., C. y Soto A., C. (1986). Estudio Comparativo Sobre la Actividad de Trimetoprim-Sulfametopirizina y Nitrofurantoína en Infecciones Urinarias del Niño. *Revista Chilena de Pediatría*, 56(5), 341-344.
25. Mestres Miralles, C. y Duran Hortolá, M. (2012). Interacciones fármaco-alimento de tipo farmacocinético. En *Farmacología en Nutrición* (pp. 217-223). Madrid: Panamericana.
26. Boletín de información farmacoterapéutica: Interacciones entre medicamentos y alimentos. (1999). España: INSALUD.
27. Otsuka, M., Teraoka, R. & Matsuda, Y. (1991). Physicochemical Stability of Nitrofurantoin Anhydrate And Monohydrate Under Varios Temperature and Humidity Conditions. *Pharmaceutical Research*, 8(8), 1066-1068.
28. Otsuka, M., Teraoka, R. & Matsuda, Y. (1992). Rotating-Disk Dissolution Kinetics of Nitrofurantoin Anhydrate and Monohydrate at Varios Temperatures. *Pharmaceutical Research*, 9(2), 307-311.
29. Ali, A. A. & Gorashi, A. S. (1984). Absorption and dissolution of nitrofurantoin from different experimental formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 19(3), 297-306.
30. Ayuso, Ma. L., Villegas, Ma. H. y Otálora, A. (s. f.). Biodisponibilidad comparativa de dos productos comerciales de Nitrofurantoína en humanos. Citado el 5 de Febrero de 2015. (s. l.) Recuperado de: <http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/farmacia/revista/V3N4P5-27.pdf>.
31. Bis 21: Burton, L., Chabner, B. y Knollman, B. (2012). Diseño y optimización de regímenes posológicos: datos farmacocinéticos. En *Goodman & Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica* (p. 1949). Madrid: Mc Graw Hill.

32. Watari, N., Funaki, T., Aizawa, K. & Kaneniwa, N. (1983). Nonlinear assessment of nitrofurantoin bioavailability in rabbits. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 11(5), 529-545.
33. Alhamami Omran, M. O. (2002). The effects of some physico-chemical factors and pharmaceutical excipients on the bioavailability of nitrofurantoin oily and aqueous suspensions in rats. *Drug development and industrial pharmacy*, 28(3), 305-316.
34. Gohel, M., Parikh, R., Popat, A., Mohapatra, A., Barot, B., Patel, C., Joshi, H., Sarvaiya, K., Baldaniya, L., Mistry, P., Parejiya, P., Parmar, R., Nagori, S. & Patel, T. (2007). *Pharmaceutical Suspensions: A Review* en Pharmainfo.net. Citado el 20 de Marzo de 2014. Recuperado de: <http://www.pharmainfo.net/free-books/pharmaceutical-suspensionsa-review>.
35. Fármacos. (2021). En Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos Volumen II (p.p 1777-1778). D. F.: Secretaria de Salud.
36. Conklin, J. D. & Hollifield, R. D. (1965). A new method for the determination of nitrofurantoin un urine. *Clinical Chemistry*, 11(10), 925-931.
37. Hollifield, R. D. & Conklin, J. D. (1970). A method for determinig Nitrofurantoin in urine in the presence of phenazopyridine hydrochloride and its metabolites. *Clinical Chemistry*, 16(4), 335-338.
38. Hoja de seguridad Nitrofurantoína. (2013). Citado el 30 de Julio de 2015. (s. l.). Recuperado de: <https://www.goldbio.com/documents/2141/N-690-SDS+%28MSDS%29.pdf>.
39. Ruiz Dávila, J. (s. f.). pKa de medicamentos y compuestos de referencia. Citado el 1 de Junio de 2014. (s. l.). Recuperado de: file:///C:/Users/usuario/Downloads/pKa+Farmacos-BD_BE+UFE.pdf.
40. Organización Panamericana de la Salud. (2005). *Citerios científicos para los ensayos de bioequivalencia (in vivo e invitro), las bioexenciones y las estrategias para su implementación (documento borrador)*. Presentado en IV Conferencia Panamericana para la organización de la reglamentación farmacéutica. República Dominicana.
41. Carretero Ortega, J. (2003). *Disolución de medicamentos genéricos intercambiables: Indometacina y Paracetamol*. (Tesis de licenciatura). UNAM. D. F.

42. Furadantina tabletas. (2009). Citado el 15 de Junio de 2015. Vademecum de medicamentos de México. Recuperado de: http://www.farmacopedia.com.mx/furadantina_tabletas/contraindicaciones.html.
43. Macrofantina cápsulas. (2009). Citado el 6 de Junio de 2015. Vademecum de medicamentos de México. Recuperado de: http://www.farmacopedia.com.mx/macrofantina_capsulas/presentaciones_.html.
44. Secretaria de Salud. (2015). Artículo 226 en Ley General de Salud (pp. 84-88). México.
45. Lozano, Ma. C., Córdoba, D. y Córdoba, M. (2012). Formas líquidas de administración oral. En *Manual de tecnología farmacéutica* (pp. 361-372). Barcelona: Elsevier.
46. Vila Jato, J. L. (2001). Aseguramiento de la calidad. En *Tecnología Farmacéutica volumen II: Formas Farmacéuticas* (pp. 513-591). Madrid: Síntesis.
47. Pradeau, D., y Cohen, Y. (1998). Eficacia antimicrobiana de los conservadores. En *Análisis Químicos Farmacéuticos de Medicamentos* (pp. 877-883). D. F.: UTEHA, Noriega Editores.
48. Preparados Farmacéuticos. (2021). Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos Volumen III (pp. 3747-3752). D. F.: Secretaria de Salud.
49. Métodos Generales de Análisis. (2021). En Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos Volumen I (pp. 219-563). D. F.: Secretaria de Salud.
50. Golam Azam, Md. & Shabbir Haider, S. (Octubre 2008). Evaluation of Dissolution Behavior of Paracetamol Suspensions. *Journal of Pharmaceutical Science*, 7(1), 53-58.
51. Fuentes N., I., Rubio C., K., Hernández Z., L. P., Portilla B., M. y Aguilar C., A. E. (2006). Estudios de perfiles de disolución, calorimetría diferencial de barrido y tamaño de partícula como elementos para determinar la calidad de materias primas. *Revista de Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(3), 43-57.
52. Bis 35: Pruebas de Intercambiabilidad. (2021). Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos Volumen II (pp. 2049-2050). D. F.: Secretaria de Salud.
53. Auton, M. E. (2004). El diseño de las formas farmacéuticas. En *Farmacología. La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas* (pp. 1-12). Madrid: Elsevier.

54. Siewert, M., Dressman, J., Brown, C. K. & Shah, V. P. (Enero 2003). FIP/AAPS Guidelines to Dissolution/in Vitro Release Testing of Novel/Special Dosage Forms. *AAPS PharmSciTech*, 4(1), 1-10.
55. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013. 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 de intercambiabilidad. (2013). D. F.: Secretaria de Salud.
56. Alpízar Ramos, Ma. S. y Hernández Baltazar, E. Tabletas convencionales. (2010). En *Formas Farmacéuticas Sólidas* (pp. 110-162). D. F.: UNAM, Facultad de Química.
57. Vásquez Sosa, M. (2007). *Validación de un método para evaluar el comportamiento de una disolución de Diclofenaco suspensión*. (Tesis de licenciatura). Universidad de el Salvador, Facultad de Química y Farmacia. Salvador.
58. Abbirami, V., Sainithya, P., Shobana, A., Ramya Devi, D. & Vedha Hari, B. N. (2013). A review on in-vitro bioequivalence studies and its methodologies. *International Journal of ChemTech Research*, 5(5), 2295-2302.
59. Petro, E., Eros, I. & Csoka, I. (2012). Review of in vitro drug release test method's statistical evaluation to compare dissolution profile of semisolid dosage forms-Part I. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(3), 180-181.
60. Aguilar Ros, A., Caamaño Somoza, M., Martín Martín, F. R., y Montejo Rubio, Ma. C. (2014). Proceso de disolución. Parámetros amodelísticos. Comparación de perfiles. En *Biofarmacia y Farmacocinética. Ejercicios y problemas resueltos* (pp. 27-34). Barcelona: Elsevier.
61. Costa, P. & Sousa Lobo, J. M. (2001) Modelling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 123-133.
62. Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C. & Xie, S. (2010). DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 12(3), 263-271.
63. Kassaye, L. & Genete, G. (2013). Evaluation and comparison of in-vitro dissolution profiles for different brands of amoxicillin capsules. *African Health Sciences*, 13(2), 369-376.

64. Pérez Guzmán, M., Orobio Lerma, Y. y Baena Aristizábal, Y. (2013). Estudio de la liberación in vitro de metformina, a partir de dos productos multifuente de liberación inmediata, comercializados en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmaceuticas*, 42(2), 169-189.
65. Guía para la Industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. (2010). Citado el 6 de Mayo de 2015. FDA. Recuperado de: <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm200707.htm>.
66. Rodríguez Gamón, H. M. (2010). *Estudio comparativo de perfiles de disolución de medicamentos del mercado nacional que contienen glibenclamida*. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería. Tijuana.
67. Bis 58: Aguilar Ros, A., Caamaño Somoza, M., Martín Martín, F. R., y Montejó Rubio, Ma. C. (2014). Velocidad de disolución, Cinética de raíz cuadrada. Función de Weibull. En *Biofarmacia y Farmacocinética. Ejercicios y problemas resueltos* (pp. 61-69). Barcelona: Elsevier.
68. U.S. Food and Drug Administration. (2009). Dissolution Methods. Citado el 20 de Febrero de 2015. FDA. Recuperado de: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults_Dissolutions.cfm?PrintAll=1.
69. Métodos Generales de Análisis. (2006). En *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos primer suplemento* (pp. 2427-2456). D. F.: Secretaría de Salud.
70. Robinson, K. A. y Robinson, J. F. (2001). Espectroscopías Infrarroja y Raman: espectroscopías vibracionales. En *Análisis Instrumental* (pp. 446-478). Madrid: Prentice Hall.
71. Olsen, E. D. (2003). Espectrofotometría de infrarrojo. En *Métodos ópticos de análisis* (pp. 163-254). Madrid: Reveré.
72. Skoog, D. A., Holler, F. J., y Nieman, T. A. (2002). Aplicaciones de la espectrometría en el infrarrojo. En *Principios de análisis instrumental* (pp. 435-458). Madrid: Mc Graw Hill.
73. Bis 47: Pradeau, D., y Cohen, Y. (1998). Trámites metodológicos en el análisis farmacéutico. En *Análisis Químicos Farmacéuticos de Medicamentos* (pp. 56-111). D. F.: UTEHA, Noriega Editores.

74. Control Microbiológico de Materias Primas y Productos Farmacéuticos No Estériles. (2009). Citado el 30 de Diciembre de 2014. Recuperado de: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Contr ol_Microbiol%C3%B3gico_PNE.pdf.
75. Madigan, M. T., Martnko, J. M., Dunlap, P. V., y Clark, D. P. (2009). Crecimiento microbiano. En *Brock Biología de los microorganismos* (pp. 155-190). Madrid: Pearson Addison Wesley.
76. Granados Pérez, R., y Villaverde Peris, Ma. C. (1997). Siembras. Cultivo de cepas. En *Microbiología: Bacteriología, Medios de cultivo y pruebas bioquímicas, Micología general, Parasitología general* (pp.37-50). Madrid: Paraninfo.
77. Bis 74: Madigan, M. T., Martnko, J. M., Dunlap, P. V., y Clark, D. P. (2009). Un breve viaje por el mundo microbiano. En *Brock Biología de los microorganismos* (pp. 29-54). Madrid: Pearson Addison Wesley.
78. Bis 75: Granados Pérez, R., y Villaverde Peris, Ma. C. (1997). Características biológicas de la bacteria. Morfología. En *Microbiología: Bacteriología, Medios de cultivo y pruebas bioquímicas, Micología general, Parasitología general* (pp. 1-39). Madrid: Paraninfo.
79. Granados Pérez, R. y Villaverde Peris, Ma. C. (1997). Examen microscópico: Tinciones. En *Microbiología: Bacteriología, características y clasificación bacteriana. Virología, características y técnicas bioquímicas* (pp. 223-247). Madrid: Paraninfo.
80. Bis: 78: Granados Pérez, R. y Villaverde Peris, Ma. C. (1997). Examen microscópico: Observación de microorganismos vivos. En *Microbiología: Bacteriología, características y clasificación bacteriana. Virología, características y técnicas bioquímicas* (pp. 209-222). Madrid: Paraninfo.
81. Castañeda Briones, Ma. T. (2003). Práctica 6: Tincion de flagelos por el método de Leifson. En *Microbiología aplicada. Manual de laboratorio* (pp. 35-41). D. F.: Universidad Autónoma Metropolitana.
82. Bis 75: Granados Pérez, R., y Villaverde Peris, Ma. C. (1997). Pruebas bioquímicas III. Enzimas: Pruebas enzimáticas. En *Microbiología: Bacteriología, Medios de cultivo y pruebas bioquímicas, Micología general, Parasitología general* (pp. 85-112). Madrid: Paraninfo.
83. Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C. y Winn, W. C. (1999). Protocolos. En *Diagnóstico microbiológico texto y atlas a color* (pp. 1258-1357). Buenos Aires: Panamericana.

84. Bis 75: Granados Pérez, R., y Villaverde Peris, Ma. C. (1997). Pruebas bioquímicas simultáneas. En *Microbiología: Bacteriología, Medios de cultivo y pruebas bioquímicas, Micología general, Parasitología general* (pp. 127-148). Madrid: Paraninfo.
85. Bis 75: Granados Pérez, R., y Villaverde Peris, Ma. C. (1997). Pruebas bioquímicas I: Metabolismo. Metabolismo hidrocarbonado. En *Microbiología: Bacteriología, Medios de cultivo y pruebas bioquímicas, Micología general, Parasitología general* (pp. 51-73). Madrid: Paraninfo.
86. Quiñones Díaz, J. A., Ruíz Matus, C., Kuri Morales, P. y Juan López, M. (2013). Lineamientos para la vigilancia por laboratorio de enfermedad diarreica aguda bacteriana. Citado el 7 de Mayo de 2015. Recuperado de: <http://www.ssm.gob.mx/portal/page/colera/Laboratorio.pdf>.
87. Pavia, D. L., Lampman, G. M. & Kriz, G. S. (2001). Infrared Spectroscopy. In *Introduction to Spectroscopy* (pp. 13-84). E. U. A.: Thomson Learning.
88. Shah, V. P., Noory, A., Noory, C., McCullough, B., Clarke, S., Everett, R., Naviasky, H., Srinivasan, B. N., Fortman, D. & Skelly, J. P. (1995). In vitro dissolution of sparingly water-soluble drug dosage forms. *International journal of pharmaceutics*, 125, 99-106.
89. Expósito Harris, R. (2010). *Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos*. (Tesis de doctorado). Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas. Madrid.
90. Viseras Iborra, Ma. T. (2008). *Desarrollo galénico de preparados obtenidos por interacción del ácido 5-amino salicílico con halloysita*. (Tesis de doctorado). Universidad de Granada, Facultad de farmacia. Granada.
91. Machín Ledesma, R. (2012). Síntesis y caracterización de polímeros de ciclodextrina. Aplicación a la liberación de fármacos. (Tesis de doctorado). Universidad de Navarra, Facultad de Ciencias. Navarra.
92. Sandoval, P., Baena, Y., Aragón, M., Rosas, J. E. y Ponce, Luisa (2008). Mecanismos generales de cesión de principios activos a partir de matrices monolíticas hidrofílicas preparadas con éteres de celulosa. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmaceuticas*, 37(2), 105-121.
93. Medios de Cultivo para Microbiología. (1981). Barcelona: ADSA=MICRO.

94. Delgado Iribarren, A., Polanco, A., Amich, S. y Salve, Ma. L. (2000). Enterobacterias. En *Manual de Laboratorio clínico básico. Microbiología* (pp. 272-276). Bogotá: Mc Graw Hill.
95. Garza Velasco, R., Hernández Gómez, L. y Castillo Rojas, G. (2011). Enterobacterias y Pseudomonas. En *Manual de Bacteriología Experimental* (pp. 69-75). D. F.: UNAM, Facultad de Química.
96. Bailón Lira, L., Cruz González Meléndez, R. y Sandoval Cervantes, A. (2003). *Atlas de Pruebas Bioquímicas para Identificar Bacterias*. D. F.: UNAM, Facultas de Estudios Superiores de Zaragoza.

Anexos

Anexo I: precauciones y medidas de seguridad.

Primeros auxilios

En caso de inhalación: Llevarlo a un lugar ventilado. Si no respira darle respiración artificial. Consultar a un médico.

Piel: Lavarse con jabón y abundante agua. Consultar a un médico.

Ojos: Enjuagar inmediatamente con agua por al menos 15 minutos. Asegurarse de enjuagar bien separando los párpados con los dedos. Consultar a un médico.

Ingestión: Lavar la boca con agua. Tomar abundante agua. Consultar a un médico.

Medidas contra derrames accidentales

Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia: Usar equipo de protección personal. Evitar la formación de polvo. Evite respirar los vapores. Asegurar ventilación adecuada. Evacue al personal a zonas seguras. Evite respirar el polvo.

Manipulación y almacenamiento

Precauciones para una manipulación segura: Evitar el contacto de nitrofurantoína con la piel y los ojos. Evitar la formación de polvo y aerosoles de nitrofurantoína. Proveer una extracción apropiada en los lugares donde se forma polvo.

Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades: Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Conservar en lugar seco. El producto es sensible a la luz (38).

Anexo II: composición y preparación de medios de cultivo (69), (93).

Caldo TSB

Fórmula en g/L

Digerido pancreático de caseína	17.0
Digerido papaínico de soya	3.0
Cloruro sódico	5.0
Fosfato dibásico de potasio	2.5
Glucosa monohidratada	2.5
pH final aproximadamente de 7.3	

Suspender 30 g de medio en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Distribuir en tubos y esterilizar durante 15 minutos a 121 °C.

Agar TSA

Fórmula en g/L

Digerido pancreático de caseína	15.0
Digerido papaínico de soya	5.0
Cloruro sódico	5.0
Agar	15.0
pH final aproximadamente de 7.3	

Añadir 40 g de medio en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición hasta disolver totalmente el agar. Esterilizar durante 15 minutos a 121 °C en autoclave.

Agar nutritivo

Fórmula en g/L

Extracto de carne	1.0
Extracto de levadura	2.0
Peptona	5.0
Cloruro sódico	5.0
Agar	15.0
pH final aproximadamente de 7.4	

Suspender 28 g de medio en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

Caldo selenito-cistina

Fórmula en g/L

Peptona	5.0
Lactosa	4.0
Biselenito sódico	4.0
Fosfato sódico	5.0
L-Cistina	0.01
pH final aproximadamente de 7.0	

Añadir 23 g de polvo en 1 L de agua destilada y calentar hasta disolución. Filtrar para esterilizar y repartir asépticamente en tubos de ensaye.

Agar X. L. D.

Fórmula en g/L

Xilosa	3.5
L-Lisina	5.0
Lactosa	7.5
Sacarosa	7.5
Cloruro sódico	5.0
Extracto de levadura	3.0
Rojo fenol	0.08
Desoxicolato sódico	2.5
Tiosulfato sódico	6.8
Citrato férrico amónico	0.8
Agar	15.0
pH final aproximadamente de 7.4	

Suspender 56.68 g de medio en 1 L de agua destilada. Calentar con agitación justo hasta que el medio hierva. Enfriar a 45 °C y verter en cajas petri. No esterilizar y evitar refundir el medio.

Agar sulfito de bismuto

Fórmula en g/L

Extracto de carne	5.0
Digerido pancreático de caseína	5.0
Digerido péptico de tejido animal	5.0
Dextrosa	5.0
Fosfato de sodio	4.0
Sulfato ferroso	0.3
Sulfito de bismuto (indicador)	8.0
Agar	20.0
Verde brillante	0.025
pH final aproximadamente de 7.6	

Suspender 52.3 g de medio en 1 L de agua destilada. Calentar a punto de ebullición con agitación constante, no sobrecalentar. Enfriar a 45 °C y verter en cajas petri. No esterilizar.

Agar de eosina-azul de metileno de Levine

Fórmula en g/L

Peptona	10.0
Lactosa	10.0
Fosfato dipotásico	2.0
Agar	15.0
Eosina amarilla	0.4
Azul de metileno	0.065
pH final aproximadamente de 7.1	

Añadir 37.5 g de polvo en 1 L de agua destilada. Calentar hasta ebullición. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

Agar Mc Conkey

Fórmula en g/L

Peptona	20.0
Lactosa	10.0
Sales biliares	2.5
Cloruro sódico	5.0
Rojo neutro	0.05
Cristal violeta	0.001
Agar	15.0
pH final aproximadamente de 7.2	

Añadir 52.5 g de polvo en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

Agar urea de Christensen

Fórmula en g/L

Peptona de gelatina	1.0
Dextrosa	1.0
Cloruro sódico	5.0
Fosfato monopotásico	2.0
Rojo fenol	0.012
Agar	15.0
pH final aproximadamente de 7.0	

Suspender 24 g de polvo en 950 mL de agua destilada y llevar a ebullición. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C y dejar enfriar hasta 50-55 °C. Añadir 50 mL de solución estéril de urea (esterilizar con filtro) al 40% y mezclar bien. Distribuir asépticamente en tubos y dejar solidificar en posición inclinada.

Agar citrato de Simmons

Fórmula en g/L

Sulfato magnésico	0.2
Fosfato monoamónico	1.0
Fosfato bipotásico	1.0
Citrato sódico	2.0
Cloruro sódico	5.0
Azul de bromotimol	0.08
Agar	15.0
pH del medio a punto de uso aproximadamente de 6.8	

Disolver 24 g de polvo en 1 L de agua destilada, calentando hasta ebullición. Repartir en tubos y esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C. Dejar solidificar en posición inclinada.

Agar KIA

Fórmula en g/L

Extracto de carne	3.0
Extracto de levadura	3.0
Peptona	20.0
Lactosa	10.0
Cloruro sódico	5.0
Dextrosa	1.0
Tiosulfito sódico	0.3
Citrato férrico	0.3
Rojo fenol	0.05
Agar	15.0

pH del medio a punto de uso aproximadamente de 7.4

Añadir 57.5 g de polvo a 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C durante 15 minutos. Dejar solidificar en posición inclinada.

Agar TSI

Fórmula en g/L

Peptona	20.0
Extracto de levadura	1.0
Lactosa	10.0
Sacarosa	10.0
Dextrosa	1.0
Cloruro sódico	5.0
Sulfato férrico	0.3
Tiosulfato sódico	0.42
Rojo fenol	0.025
Agar	12.0

pH del medio a punto de uso aproximadamente de 7.4

Disolver 59.7 g de polvo en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Pasar a tubos y esterilizar a 121 °C durante 15 minutos. Dejar solidificar inclinando los tubos.

Medio RM-VP

Fórmula en g/L

Peptona	7.0
Dextrosa	5.0
Fosfato potásico	5.0
pH del medio a punto de uso aproximadamente de 7.0	

Disolver 17 g de polvo en 1 L de agua destilada calentando si es preciso. Distribuir en tubos y esterilizar durante 15 minutos a 121 °C.

Agar LIA

Fórmula en g/L

Peptona de gelatina	5.0
Extracto de levadura	3.0
Dextrosa	1.0
Lisina	10.0
Citrato férrico amónico	0.5
Tiosulfato sódico	0.04
Púrpura bromocresol	0.02
Agar	13.5
pH del medio a punto de uso aproximadamente de 6.7 ± 0.2	

Suspender 33 g de polvo en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Distribuir en tubos y esterilizar durante 15 minutos a 121 °C. Dejar solidificar inclinando los tubos.

Agar MIO

Fórmula en g/L

Peptona de gelatina	10.0
Peptona de caseína	10.0
Dextrosa	1.0
Extracto de levadura	3.0
L- Ornitina	5.0
Púrpura bromocresol	0.02
Agar	2.0
pH del medio a punto de uso aproximadamente de 6.5 ± 0.2	

Disolver 31 g del medio en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Distribuir en tubos y esterilizar durante 15 minutos a 121 °C. Dejar solidificar en posición vertical.

Medio SIM

Fórmula en g/L

Peptona de caseína	20.0
Peptona de carne	6.0
Sulfato férrico amónico	0.2
Tiosulfato sódico	0.1
Agar	3.7
pH del medio a punto de uso aproximadamente de 7.3	

Suspender 30 g de polvo en 1 L de agua destilada y dejar embeber unos minutos. Llevar a ebullición y distribuir en tubos. Esterilizar durante 15 minutos a 121 °C y dejar enfriar en posición vertical.

Medio Hugh y Leifson

Fórmula en g/L

Peptona de caseína	2.0
Cloruro sódico	5.0
Fosfato dipotásico	0.03
Azul de bromotimol	0.03
Agar	2.5
Carbohidrato problema	10
pH del medio a punto de uso aproximadamente de 7.1	

Suspender 9.8 g de polvo en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Esterilizar durante 15 minutos a 121 °C, adicionar al medio base una solución de carbohidrato con una concentración final del 1%, añadiendo los azúcares esterilizados por filtración al medio estéril. Distribuir en tubos y dejar enfriar en posición vertical.

Anexo III: características morfológicas y bioquímicas de *Salmonella sp.* y *Escherichia coli* sobre medios selectivos (69).

Medio de cultivo	Morfología colonial de <i>Salmonella sp.</i>	Morfología microscópica y reacción de Gram
Agar xilosa-lisina desoxicolato	Colonias rojas con o sin negro	Bacilos Gram negativos
Agar sulfito de bismuto	Colonias negras o verdes	Bacilos Gram negativos

Medio de cultivo	Morfología colonial de <i>E. coli</i>	Morfología microscópica y reacción de Gram
Agar Mac Conkey	Colonias grandes rosas a rojas rodeadas de una zona de precipitado	Bacilos Gram negativos
Agar de eosina-azul de metileno de Levine	Colonias pequeñas azul-negro con brillo metálico de color verde	Bacilos Gram negativos

Anexo IV: interpretación de las pruebas bioquímicas (83), (86).

Oxidasa	Positivo	Negativo
Presencia de citocromo oxidasa	Formación de burbujas de oxígeno	No aparecen burbujas
Catalasa	Positivo	Negativo
Presencia de catalasa	Se desarrolla un color azul oscuro en el sitio de inoculación en el término de 10 segundos, si se produce de 10 a 60 segundos debe de ser nuevamente probado	No se produce color
Citrato de Simmons	Positivo	Negativo
Utilización del citrato como única fuente de carbono	La muestra en el tubo vira a color azul	La muestra en el tubo se mantiene de color verde
KIA	Positivo	Negativo
Fermentación de glucosa	Zona profunda del medio amarillo	Zona profunda del medio sin cambio
Fermentación de lactosa	Zona superficial amarilla	Zona superficial sin cambio
Producción de gas	Burbujas o rompimiento del medio	Sin formación de burbujas ni ruptura del medio
Producción de H ₂ S	Precipitado negro en el fondo o en todo el medio	Sin precipitado negro
LIA	Positivo	Negativo
Descarboxilación de lisina	Fondo color púrpura	Fondo del medio color amarillo
Desaminación de lisina	Coloración roja en la superficie	Coloración morada en la superficie
Producción de gas	Burbujas o rompimiento del medio	Sin formación de burbujas ni ruptura del medio
Producción de H ₂ S	Precipitado negro en el fondo o en todo el medio	Sin precipitado negro

TSI	Positivo	Negativo
Fermentación de glucosa	Zona profunda del medio amarillo	Zona profunda del medio sin cambio
Fermentación de lactosa y sacarosa	Zona superficial amarilla	Zona superficial sin cambio
Producción de gas	Burbujas o rompimiento del medio	Sin formación de burbujas ni ruptura del medio
Producción de H ₂ S	Precipitado negro en el fondo o en todo el medio	Sin precipitado negro
Urea de Christensen	Positivo	Negativo
Presencia de ureasa	Cambia a color rojo o rosado	No vira de color, conserva su color amarillo
Voges-Proskauer	Positivo	Negativo
Fermentación butanodiólica	Desarrollo de color rojo a más tardar después de 10 a 15 minutos	La superficie del medio queda de color amarillo o cobrizo debido a los reactivos
MIO	Positivo	Negativo
Motilidad	Medio turbio, crecimiento en todo el medio	Crecimiento solo a lo largo de la picadura
Descarboxilación de ornitina	Color púrpura (alcalino) en el fondo del medio	Color amarillo (ácido) en el fondo del medio
Producción de indol	El reactivo de Ehrlich o Kovac toma una coloración roja	El reactivo de Ehrlich o Kovac no cambia su coloración
SIM	Positivo	Negativo
Motilidad	Medio turbio, crecimiento en todo el medio	Crecimiento sólo a lo largo de la picadura
Producción de indol	El reactivo de Ehrlich o Kovac toma una coloración roja	El reactivo de Ehrlich o Kovac no cambia su coloración
Producción de H ₂ S	Precipitado negro en el fondo o en todo el medio	Sin precipitado negro
Rojo de metilo	Positivo	Negativo
Fermentación de carbohidratos	Superficie del medio rojo fuerte (pH ácido)	Color amarillo en la superficie del medio (pH alcalino)
Oxidación-Fermentación	Positivo	Negativo
Metabolismo oxidativo	Tubo "abierto" amarillo y tubo "cubierto" verde	Ambos tubos amarillos
Metabolismo fermentativo	Ambos tubos amarillos	tubo "cubierto" verde

Anexo V: identificación bioquímica de *Escherichia coli* y *Salmonella sp* (83), (94), (95), (96).

	Identificación bioquímica de <i>Salmonella</i> y <i>Escherichia</i>														
Microorganismos	Cat	Oxi	Glu	Lac	Sac	Gas	H ₂ S	Ure	Ind	Mot	R. M.	V. P.	Orn	Lis	Cit
<i>E. coli</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	V	+	-
<i>S. typhi</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
<i>S. paratyphi A</i>	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>S. choleraesuis</i>	+	-	+	-	-	+	V	-	-	+	+	-	+	+	V
<i>S. enteritidis</i>	+	-	+	-	-	+	+	-	-	V	+	-	+	+	+
<i>S. mayoría de los serotipos</i>	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+

Cat: Catalasa

Oxi: Oxidasa

Glu: Fermentación de glucosa

Lac: Fermentación de lactosa

Sac: Fermentación de sacarosa

Gas: Producción de H₂ + CO₂

H₂S: Ácido sulfhídrico

Ure: Ureasa

Ind: Indol

Mot: Motilidad

R. M.: Rojo de metilo

V. P.: Voges-Proskauer

Orn: Dercarboxilación de ornitina

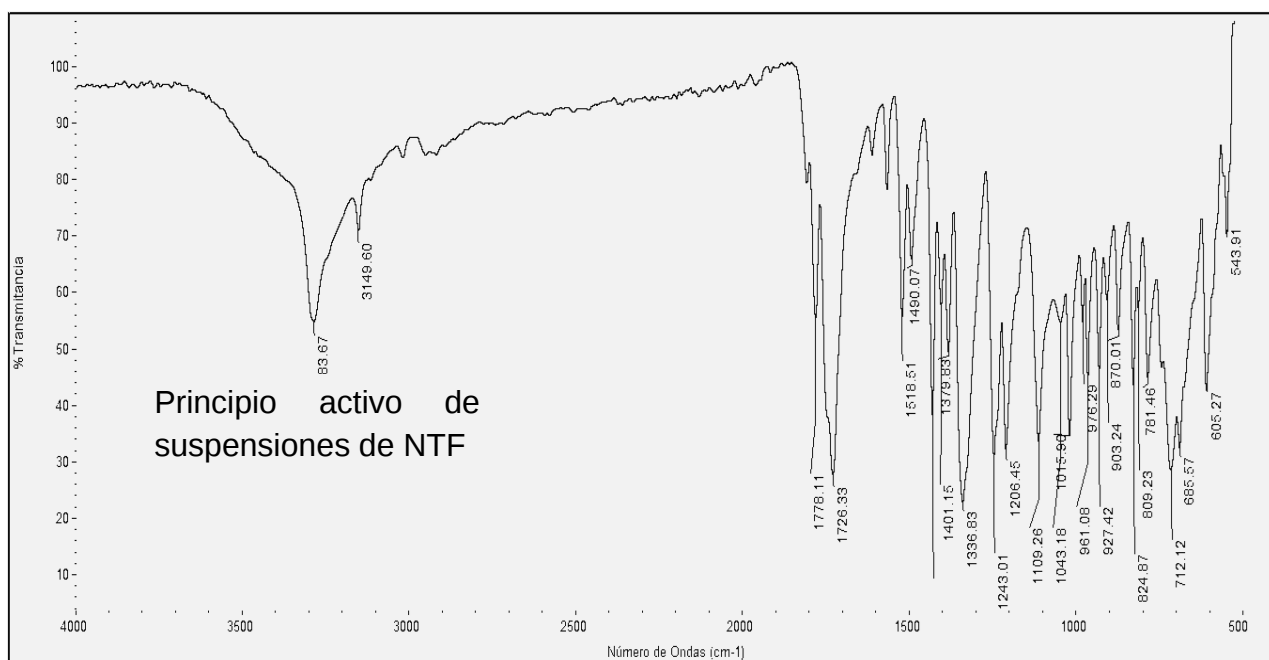
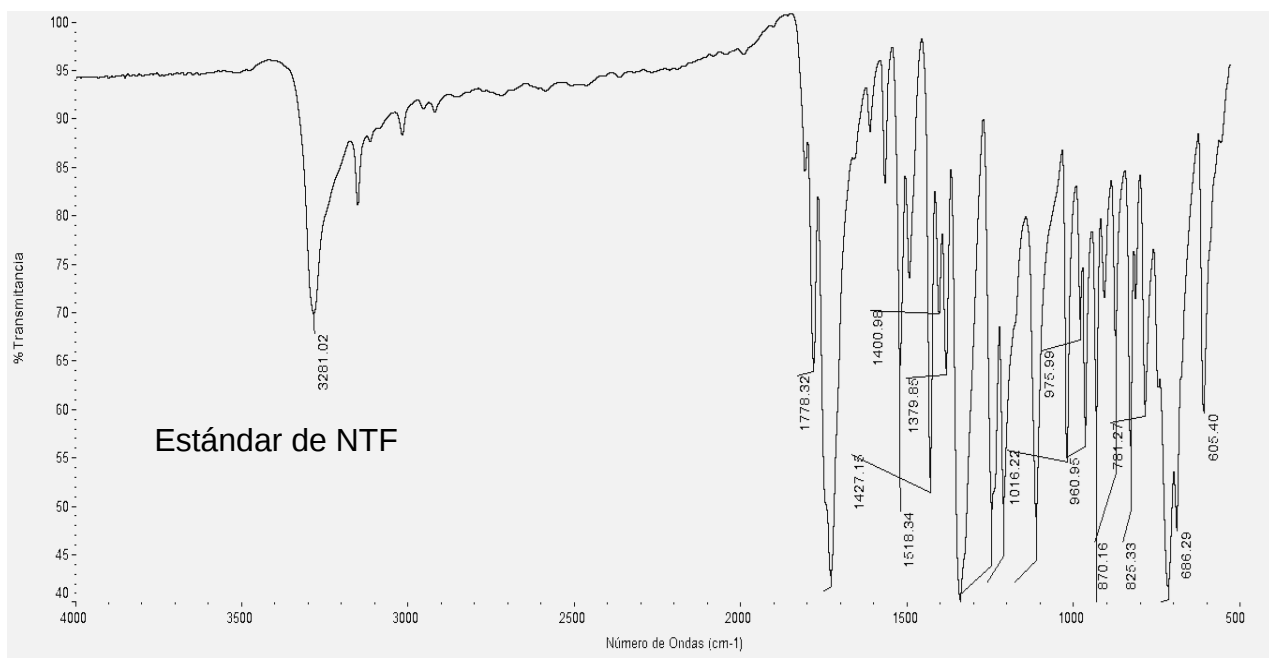
Lis: Dercarboxilación de lisina

Cit: Citrato

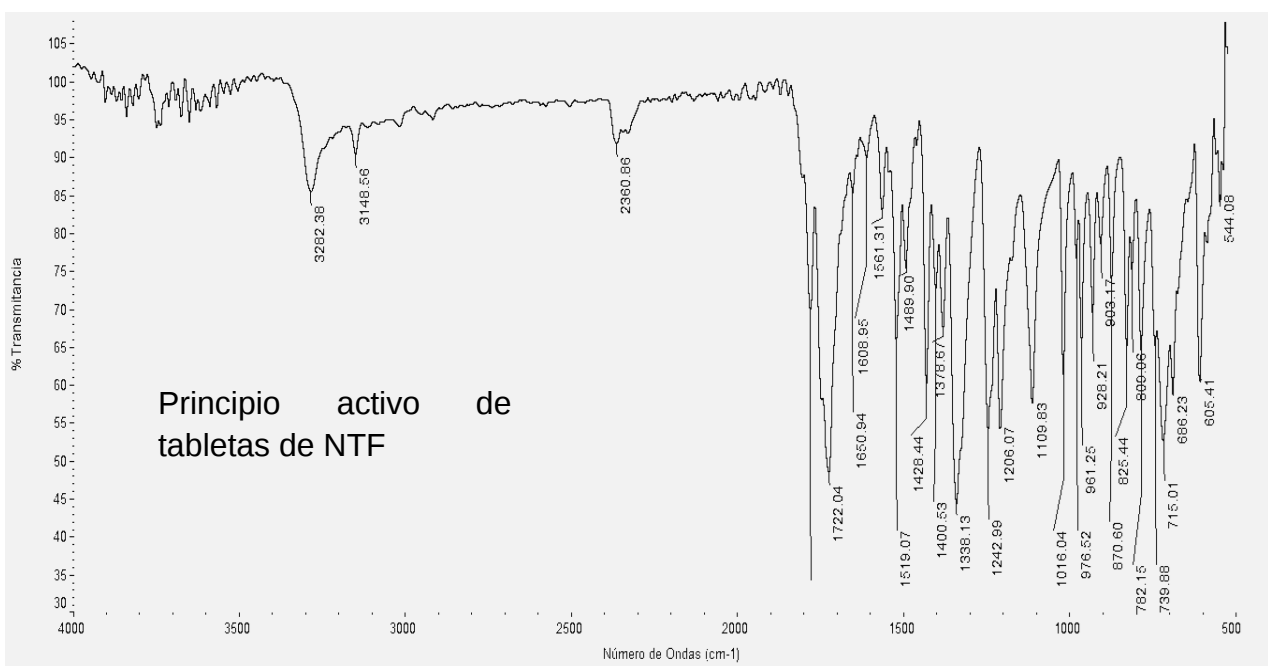
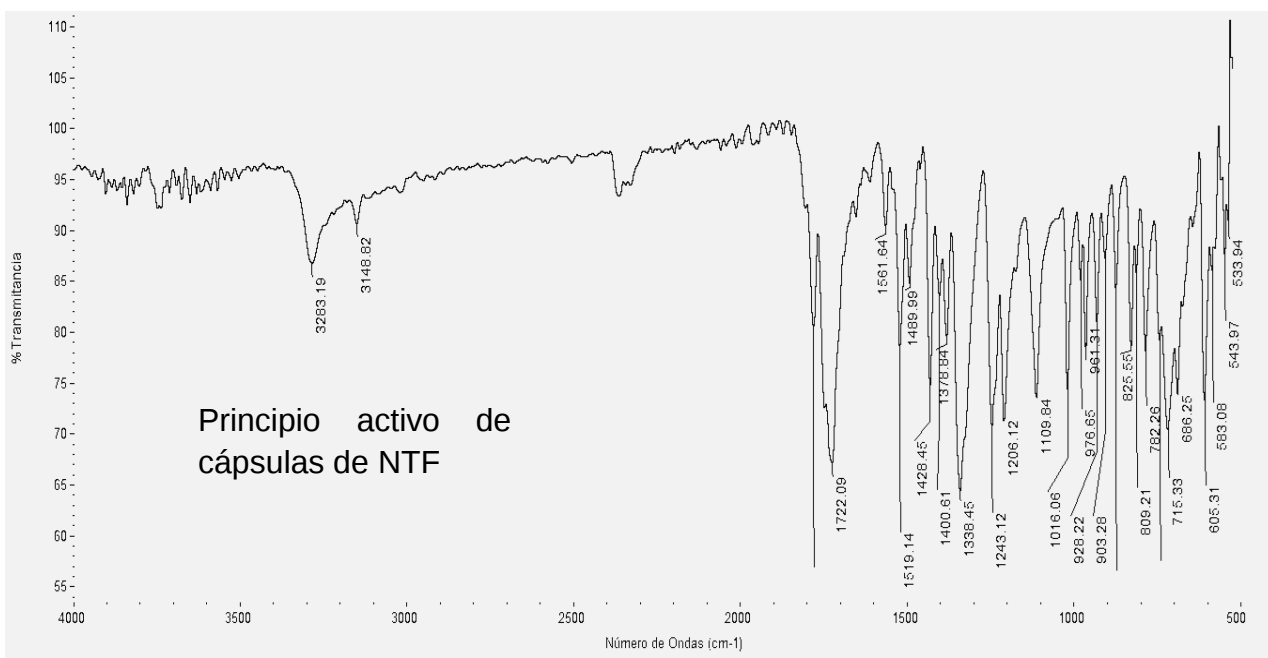
V: variable

Apéndices

Apéndice A: espectros infrarrojos de NTF



Apéndice A: continuación



Apéndice B: linealidad del sistema de disolución utilizando el espectrofotómetro HACH-DR 6000.

Concentración (mg/mL)	Curva A		Curva B	
	Absorbancia	F. R.	Absorbancia	F. R.
0.003	0.2270	75.6667	0.2310	77.0000
0.005	0.3780	75.6000	0.3710	74.2000
0.007	0.5190	74.1429	0.5230	74.7143
0.009	0.6680	74.2222	0.6670	74.1111
0.01	0.7420	74.2000	0.7470	74.7000
0.012	0.8950	74.5833	0.8900	74.1667
0.015	1.1120	74.1333	1.1150	74.3333
0.017	1.2800	75.2941	1.2650	74.4118
	$\bar{X}=$	74.7303	$\bar{X}=$	74.7046
	D. E.=	0.6775	D. E.=	0.9553
	% CV=	0.9067	% CV=	1.2788

	b	m	r	% C. V.	% Error
Curva A	-0.0005	74.6830	0.9998	0.9067	0.7815
Curva B	0.0044	74.0200	0.9999	1.2788	0.5446

Apéndice C: linealidad del sistema de disolución utilizando el espectrofotómetro UV-Visible con celda de flujo continuo Agilent 8453

Concentración (mg/mL)	Curva A		Curva B	
	Absorbancia	F. R.	Absorbancia	F. R.
0.003	0.0262	8.7353	0.0265	8.8487
0.005	0.0444	8.8730	0.0455	9.0934
0.007	0.0612	8.7456	0.0640	9.1393
0.009	0.0795	8.8283	0.0813	9.0296
0.01	0.0881	8.8052	0.0892	8.9219
0.012	0.1071	8.9208	0.1044	8.6975
0.015	0.1335	8.9020	0.1348	8.9873
0.017	0.1492	8.7747	0.1517	8.9247
	$\bar{X}=$	8.8231	$\bar{X}=$	8.9553
	D. E.=	0.0704	D. E.=	0.1411
	% CV=	0.7976	% CV=	1.5755

	b	m	r	% C. V.	% Error
Curva A	-0.0002	8.8534	0.9998	0.7976	0.6150
Curva B	0.0007	8.8720	0.9995	1.5755	1.2882

Apéndice D: reproducibilidad del sistema de disolución.

Concentración (mg/mL)	Curva A	Curva B	Curva C	$\bar{X}$	D. E.	% CV
	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia			
0.004	0.303	0.311	0.315	0.3097	0.0061	1.9731
0.006	0.462	0.469	0.465	0.4653	0.0035	0.7547
0.008	0.611	0.616	0.618	0.6150	0.0036	0.5863
0.011	0.849	0.847	0.852	0.8493	0.0025	0.2963
0.016	1.232	1.223	1.225	1.2267	0.0047	0.3853
r	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	0.0000	0.0000
m	77.3864	75.8750	76.0341	76.4317	0.8303	1.0863
b	-0.0051	0.0103	0.0107	0.0053	0.0090	169.9790

Apéndice E: porcentaje disuelto de formas farmacéuticas que contienen NTF como único principio activo, aparato 2, muestreo manual.

Suspensiones de NTF

Vaso / t (min)	3	5	10	15	30	45	60	90	120	180
1	35.9569	61.2557	79.2916	86.0702	93.0909	98.5380	98.7801	101.5642	102.8957	103.8641
2	41.5251	66.2186	80.5021	87.5228	89.2174	97.3276	98.9012	100.7169	102.2905	102.6536
3	52.9034	74.0866	87.4017	94.3014	103.8641	106.8902	105.8008	107.7376	109.9164	110.4006
4	69.9710	75.1760	83.7703	87.7649	92.4857	97.0855	97.3276	96.1171	100.5958	99.7485
5	40.6777	64.8871	79.8968	84.7387	89.4595	58.1084	92.1226	80.3810	84.2545	88.7332
6	51.2088	65.6133	79.5337	84.1335	92.2436	96.2381	95.6329	99.1433	99.8695	101.9273
7	23.2470	43.4618	74.8129	88.7332	97.9328	99.2643	91.6384	86.9175	99.6274	96.8434
8	25.1838	41.7671	71.7867	86.3123	95.0277	98.4170	93.6962	85.1018	93.9383	98.1749
9	36.9253	55.8086	80.2600	92.6067	98.9012	100.1116	97.9328	86.5544	95.0277	98.1749
10	30.5098	44.5512	72.6340	89.5806	98.6591	97.6907	94.6645	85.7071	91.8805	97.2065
11	34.1412	50.9667	78.9285	89.3385	97.8117	99.1433	94.0593	86.9175	94.7856	99.0222
12	52.1772	70.6973	85.9492	93.6962	100.4748	93.9383	87.7649	92.6067	97.0855	98.1749
$\bar{X}$	41.2023	59.5408	79.5640	88.7332	95.7640	95.2294	95.6934	92.4554	97.6806	99.5770
D. E.	13.3977	11.9851	4.7952	3.3601	4.5563	12.0871	4.5671	8.4449	6.4591	5.1118
% C. V	32.5170	20.1292	6.0268	3.7867	4.7578	12.6926	4.7726	9.1341	6.6125	5.1335
Máximo	69.9710	75.1760	87.4017	94.3014	103.8641	106.8902	105.8008	107.7376	109.9164	110.4006
Mínimo	23.2470	41.7671	71.7867	84.1335	89.2174	58.1084	87.7649	80.3810	84.2545	88.7332

Apéndice F: porcentaje disuelto de formas farmacéuticas que contienen NTF como único principio activo, aparato 1, muestreo manual.

Cápsulas de NTF

Vaso / t (min)	5	10	15	30	45	60	90	120	180
1	6.6636	13.8054	18.7683	25.5469	31.7203	35.4727	42.4934	46.3669	51.9351
2	6.3005	13.5633	18.8893	25.7890	32.3255	37.6516	43.5828	49.6352	55.4454
3	9.6898	15.2579	19.7367	25.0627	31.2361	35.1096	40.1935	45.0354	51.2088
4	6.4215	11.6265	15.5000	21.4313	28.2099	33.1728	42.0092	47.8195	57.3822
5	7.8741	12.8370	17.1947	23.8522	29.7835	36.6832	45.0354	52.1772	60.7715
6	4.8479	11.1423	15.5000	20.7050	27.1205	32.6886	39.3462	46.0038	53.3876
7	4.7269	8.8425	12.9580	19.1314	23.9733	29.1783	36.5621	43.3408	52.9034
8	5.6952	12.2318	17.4368	24.3364	31.1150	36.9253	45.3985	51.9351	60.0452
9	5.6952	11.0213	15.3790	22.1576	29.1783	36.0780	43.0987	49.6352	58.4716
10	7.0268	10.6582	14.2896	19.4946	25.3048	31.7203	37.0463	43.3408	51.3298
11	8.7214	12.7160	16.7105	23.3681	29.1783	36.5621	43.4618	51.8140	59.0768
12	7.3899	12.8370	17.4368	24.4575	36.1990	42.8566	44.1881	51.3298	59.3189
$\bar{X}$	6.7544	12.2116	16.6500	22.9444	29.6120	35.3416	41.8680	48.2028	55.9397
D. E.	1.4934	1.6882	2.0007	2.3149	3.2894	3.4518	2.9519	3.3346	3.6382
% C. V	22.1095	13.8248	12.0161	10.0892	11.1082	9.7669	7.0505	6.9178	6.5037
Máximo	9.6898	15.2579	19.7367	25.7890	36.1990	42.8566	45.3985	52.1772	60.7715
Mínimo	4.7269	8.8425	12.9580	19.1314	23.9733	29.1783	36.5621	43.3408	51.2088

Apéndice F: continuación

Tabletas de NTF

Vaso / t (min)	15	30	45	60	90	120	180
1	11.6217	18.0614	25.1305	31.5460	37.7726	44.7933	53.0245
2	10.9196	17.2625	23.6053	29.6334	36.4411	42.9776	51.0877
3	12.6385	19.3445	27.2609	33.3375	39.7094	47.9405	56.6559
4	9.5397	14.9626	21.2570	26.9704	33.4149	40.7988	49.1510
5	9.5397	15.3499	22.2980	26.9462	32.4466	38.6199	47.5774
6	10.2418	15.9552	21.1844	28.4714	35.2306	42.3724	51.3298
7	9.4186	16.1730	22.9274	29.0524	35.2306	41.2830	50.3615
8	9.9755	16.3909	22.8790	29.1250	34.8675	42.1303	51.3298
9	10.6533	16.9235	23.6295	29.7545	35.4727	42.7355	52.2982
10	9.5639	14.7689	20.8454	26.2199	32.2045	39.1041	48.1826
11	9.7334	15.2773	21.6928	27.0915	32.4466	38.4989	46.3669
12	11.5975	19.0297	26.6799	33.2164	39.7094	47.2142	56.1717
$\bar{X}$	10.4536	16.6250	23.2825	29.2804	35.4122	42.3724	51.1281
D. E.	1.0457	1.5402	2.1157	2.3952	2.6250	3.0792	3.1550
% C. V	10.0036	9.2646	9.0872	8.1803	7.4127	7.2670	6.1707
Máximo	12.6385	19.3445	27.2609	33.3375	39.7094	47.9405	56.6559
Mínimo	9.4186	14.7689	20.8454	26.2199	32.2045	38.4989	46.3669

Apéndice G: porcentaje disuelto de formas farmacéuticas que contienen NTF como único principio activo, aparato 2, muestreo automatizado.

Suspensiones de NTF

Vaso / t (min)	5	10	15	30	45	60	90	120	180
1	30.5600	70.4900	83.1100	87.5100	87.6100	87.7600	87.8900	88.1100	88.5400
2	28.6800	54.5900	77.7900	86.1200	86.5100	86.5700	86.7300	86.7600	86.8900
3	36.0300	69.9100	82.3900	86.4400	86.4500	86.5600	86.6900	86.7800	86.8300
4	35.5200	61.1600	80.4500	86.1700	86.4200	86.3900	86.5500	86.6900	86.7300
5	39.1700	63.8400	81.6600	87.0800	87.4400	87.5800	87.7600	87.8200	87.9900
6	41.4500	69.5600	81.6100	85.9500	86.3600	86.4000	86.6600	86.7500	86.7700
7	19.2300	41.9300	58.9300	84.7900	86.3700	86.5300	86.7200	86.8400	86.9700
8	21.0400	42.6300	58.8500	82.9400	84.2500	84.5100	84.6600	84.8100	84.8400
9	26.7300	46.6300	63.5600	83.5900	84.5200	84.6700	84.7900	84.9300	85.0200
10	31.0400	54.3300	75.1800	87.3200	87.6200	87.6400	87.7000	87.7000	87.8900
11	33.7300	53.0500	67.2400	85.4400	86.2900	86.4600	86.6800	86.7800	86.8500
12	39.4800	61.6600	80.1100	85.4100	85.7300	85.9600	86.0400	86.2100	86.2400
$\bar{X}$	31.8883	57.4817	74.2400	85.7300	86.2975	86.4192	86.5725	86.6817	86.7967
D. E.	7.0911	10.2651	9.4161	1.4094	1.0679	1.0273	1.0276	1.0100	1.0872
% C. V	22.2373	17.8581	12.6833	1.6440	1.2374	1.1887	1.1870	1.1652	1.2526
Máximo	41.4500	70.4900	83.1100	87.5100	87.6200	87.7600	87.8900	88.1100	88.5400
Mínimo	19.2300	41.9300	58.8500	82.9400	84.2500	84.5100	84.6600	84.8100	84.8400

Apéndice H: porcentaje disuelto de formas farmacéuticas que contienen NTF como único principio activo, aparato 1, muestreo automatizado.

Cápsulas de NTF

Vaso / t (min)	5	10	15	30	45	60	90	120	180
1	4.2150	10.8300	14.4200	19.8600	24.0600	27.6600	33.7100	38.8000	46.7700
2	5.0240	10.5300	13.6800	18.4900	22.2800	25.5600	31.1700	35.9900	43.7600
3	5.5250	8.9700	11.8100	16.6300	20.5500	23.9500	29.9200	35.2000	43.8500
4	6.3370	10.2200	12.8600	17.8300	21.8800	25.5300	31.7100	37.1000	46.2400
5	8.1330	12.4700	14.8500	19.6500	23.6000	27.0400	32.8600	37.8500	45.6700
6	9.6370	13.2700	15.4000	19.8600	23.5800	26.7300	32.3000	37.1100	44.9900
$\bar{X}$	6.4785	11.0483	13.8367	18.7200	22.6583	26.0783	31.9450	37.0083	45.2133
D. E.	2.0436	1.5671	1.3339	1.3174	1.3338	1.3379	1.3293	1.2841	1.2415
% C. V	31.5445	14.1840	9.6406	7.0372	5.8865	5.1304	4.1612	3.4697	2.7459
Máximo	9.6370	13.2700	15.4000	19.8600	24.0600	27.6600	33.7100	38.8000	46.7700
Mínimo	4.2150	8.9700	11.8100	16.6300	20.5500	23.9500	29.9200	35.2000	43.7600

Tabletas de NTF

Vaso / t (min)	5	10	15	30	45	60	90	120	180
1	2.1410	4.9590	7.3250	13.2900	18.1300	22.3300	29.1000	34.5200	42.7300
2	2.9160	5.9660	8.3890	14.5400	19.6500	24.0700	31.1000	36.6700	45.0100
3	3.7600	6.6650	9.5370	16.1900	21.4800	26.0500	33.2500	38.7400	46.4500
4	3.6490	6.2500	8.5880	14.1700	18.7500	22.6500	28.9900	33.9700	41.7100
5	4.2750	7.1470	9.4700	15.4900	20.5000	24.7100	31.6700	37.1500	44.9400
6	4.2350	6.8820	9.0680	14.6600	19.3600	23.3900	29.9300	35.0600	42.9200
$\bar{X}$	3.4960	6.3115	8.7295	14.7233	19.6450	23.8667	30.6733	36.0183	43.9600
D. E.	0.8269	0.7875	0.8275	1.0136	1.2063	1.3848	1.6539	1.8150	1.7844
% C. V	23.6516	12.4775	9.4790	6.8845	6.1405	5.8022	5.3918	5.0392	4.0591
Máximo	4.2750	7.1470	9.5370	16.1900	21.4800	26.0500	33.2500	38.7400	46.4500
Mínimo	2.1410	4.9590	7.3250	13.2900	18.1300	22.3300	28.9900	33.9700	41.7100

Apéndice I: porcentaje disuelto de formas farmacéuticas que contienen NTF como único principio activo, aparato 2, muestreo automatizado.

Cápsulas de NTF

Vaso / t (min)	5	10	15	30	45	60	90	120	180
1	3.6670	8.3080	11.8300	14.7400	16.0600	17.5900	20.9900	23.6800	28.1100
2	1.9720	6.9570	9.6850	13.0900	15.3700	17.3600	21.0200	24.4900	30.3000
3	3.1720	8.5820	12.8600	16.1000	17.9200	19.6100	22.8300	25.6400	30.1700
4	0.8144	7.2560	12.6100	15.5600	16.8900	18.1500	20.1500	21.7900	24.2000
5	3.4170	13.6800	17.5600	21.0200	23.0700	24.6000	27.0100	29.1200	32.0100
6	6.0570	14.7400	17.9000	21.5000	24.0700	26.2900	29.8200	32.6800	36.9200
$\bar{X}$	3.1832	9.9205	13.7408	17.0017	18.8967	20.6000	23.6367	26.2333	30.2850
D. E.	1.7678	3.3951	3.2876	3.4551	3.7322	3.8708	3.9057	3.9886	4.2136
% C. V	55.5351	34.2235	23.9255	20.3223	19.7503	18.7904	16.5239	15.2045	13.9130
Máximo	6.0570	14.7400	17.9000	21.5000	24.0700	26.2900	29.8200	32.6800	36.9200
Mínimo	0.8144	6.9570	9.6850	13.0900	15.3700	17.3600	20.1500	21.7900	24.2000

Tabletas de NTF

Vaso / t (min)	5	10	15	30	45	60	90	120	180
1	3.0540	8.4750	11.4900	17.2400	21.3900	24.7500	29.7400	33.7200	39.4600
2	3.1890	6.7300	8.9430	14.7800	19.3200	23.4200	29.5900	36.9600	45.5700
3	4.1850	7.6120	10.0100	15.7500	19.4600	22.5400	26.9100	29.8900	34.3700
4	4.9370	8.0800	10.1400	14.8900	18.5300	21.7900	27.2200	31.2700	36.3300
5	4.9980	8.5070	11.1500	16.6800	20.9200	24.5900	30.4500	34.8200	40.7500
6	4.8640	8.1890	10.7400	16.5200	21.0600	24.8500	30.6600	35.3900	40.6600
$\bar{X}$	4.2045	7.9322	10.4122	15.9767	20.1133	23.6567	29.0950	33.6750	39.5233
D. E.	0.8895	0.6724	0.9174	1.0050	1.1610	1.2867	1.6270	2.6516	3.9017
% C. V	21.1569	8.4769	8.8106	6.2904	5.7724	5.4390	5.5921	7.8742	9.8719
Máximo	4.9980	8.5070	11.4900	17.2400	21.3900	24.8500	30.6600	36.9600	45.5700
Mínimo	3.0540	6.7300	8.9430	14.7800	18.5300	21.7900	26.9100	29.8900	34.3700