

**ESTUDIOS DE ESTABILIDAD FÍSICA Y QUÍMICA DE UNA PREPARACIÓN  
EXTEMPORÁNEA DE WARFARINA SÓDICA ELABORADA A PARTIR DE  
TABLETAS DE 5 mg PARA USO HOSPITALARIO**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**

**MARCEL BERRIO MEDINA**

**Universidad Nacional de Colombia**

**Facultad de Ciencias**

**Departamento de Farmacia**

**Maestría Ciencias-Farmacología**

**Bogotá, Colombia**

**2012**

**ESTUDIOS DE ESTABILIDAD FÍSICA Y QUÍMICA DE UNA PREPARACIÓN  
EXTEMPORÁNEA DE WARFARINA SÓDICA ELABORADA A PARTIR DE  
TABLETAS DE 5 mg PARA USO HOSPITALARIO**

**MARCEL BERRIO MEDINA**

Tesis presentada como requisito para optar al título de:

**Magíster en Ciencias-Farmacología**

Director:

MSc. Helber de Jesús Barbosa Barbosa

**Universidad Nacional de Colombia**

**Facultad de Ciencias**

**Departamento de Farmacia**

**Maestría Ciencias-Farmacología**

**Bogotá, Colombia**

**2012**

*El futuro pertenece a aquellos que se preparan  
para él, hoy.*

*Malcom X*

## **Agradecimientos**

A Dios por escuchar siempre mis oraciones, por darme la existencia y salud para luchar día a día.

A mi madre hermosa Eduvigis Medina Caraballo, quien siempre ha estado a mi lado, quien siempre me ha cuidado, aconsejado, quien ha velado cada uno de mis pasos, quien incansablemente me ha entregado su amor, quien es artífice de este logro. Por su infinito apoyo, por sus abrazos y sus palabras de cariño, consuelo y de aliento en cada momento de mi vida. Mil y mil gracias a mi madre adorada.

A mi hermanita Indira Berrio Medina, quien junto con mi madre es mi ejemplo de lucha, entrega, dedicación, sacrificio e inspiración hacia éxito. Mil gracias por apoyarme siempre y brindarme un consejo para seguir adelante.

A mi comadre, nana y amiga Beatriz Teherán por darme siempre una sonrisa, un consejo, por sus detalles y por cuidar a mi madre y así aportar en la labor de ella en mí.

A mi tutor Helber de Jesús Barbosa Barbosa, por apoyarme en todo momento, por sus consejos, su gran paciencia al momento de ayudarme a resolver las adversidades que se presentaron en el desarrollo de la maestría, por su actitud positiva y su diligencia en cada solicitud de mi parte.

A todos los docentes que me impartieron sus enseñanzas y conocimientos.

A los profesores Javier García y Julián López por permitirme, sin reparos, la utilización de los laboratorios de investigaciones en análisis instrumental, asesorías y los cuartos de estabilidad, de igual forma los materiales y reactivos.

A mi amiga y compañera Aura Rocío Hernández por su colaboración con materiales y reactivos para el desarrollo de la parte experimental de este trabajo de grado, por su compañía, consejos y sugerencias.

A los auxiliares de los laboratorios Patricia Avellaneda, Dora Hernández, Diana Rojas por su colaboración y en especial a Rigoberto Pedreros por estar siempre dispuesto a colaborar en

la disposición de los reactivos y materiales y darme una palabra de aliento cuando me sentí cansado.

A las secretarias y personal del departamento de farmacia que de una u otra forma me colaboraron.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá por permitirme ser parte de tan prestigiosa institución educativa.

## Resumen

La warfarina sódica es uno de los fármacos de mayor interés en la terapia anticoagulante, no solo por su importante actividad, sino también por su estrecho índice terapéutico, su interacción con otros fármacos y alimentos, y por sus eventos adversos.

La utilización de una preparación extemporánea, elaborada a partir de tabletas de warfarina sódica, es una alternativa hospitalaria para el control de su dosificación, permitiendo la administración de dosis más exactas y controladas que las administradas por la fractura de tabletas para hacer una división de la dosis.

En la presente investigación se validó una metodología para la cuantificación de warfarina sódica en suspensión, preparada a partir de tabletas de 5 mg del mercado nacional, provenientes de dos lotes. Posteriormente se llevó a cabo el estudio de estabilidad física y química de la preparación extemporánea, durante 14 días, almacenadas a 5, 30 y 40°C respectivamente, para muestras de 30 mL preparadas en una solución de NaCl 0.9% y solución de Dextrosa 5.0%, envasadas en recipientes de vidrio transparentes y ámbar, con tapa rosca plástica. Los porcentajes remanentes de todas las muestras no fueron estadísticamente diferentes del 100% ( $t_{cal} = 1.251$  para 5°C, 0.650 para 30°C y 0.592 para 40°C;  $t_{tab} = 1.960$ ), las constantes de velocidad de degradación y los intervalos de confianza para la pendiente, de todos los sistemas reflejan su estabilidad (Solución de NaCl 0.9% envase transparente:  $k = 0.0012$  g/100mL hora, IC = 1.268; NaCl 0.9% envase ámbar:  $k = -0.0016$  g/100mL hora, IC = 1.261; Dextrosa al 5.0% envase transparente:  $k = -0.0077$  g/100mL hora, IC = 1.269 y Dextrosa al 5.0% envase ámbar:  $k = 0.00008$  g/100mL hora, IC = 1.271) y fue posible la mezcla de los dos lotes empleados en el estudio, tanto en solución de NaCl 0.9%, como en solución de Dextrosa 5.0% ( $F_{cal} \text{ modelos} = 0.432$  y 2.342 respectivamente y  $F_{tab} = 3.232$ ).

Además el pH de las muestras, entre 7.0 y 8.0, favoreció la forma ionizada del fármaco, la cual es más estable y se reflejó en el mantenimiento del color y la apariencia de las mismas.

La suspensión más estable, fue la preparada utilizando como vehículo la solución de NaCl 0.9%, envasada en frasco de vidrio ámbar con tapa rosca plástica y almacenada a 5°C. Sin embargo, no se encontró diferencias estadísticamente significativas en la estabilidad de las muestras preparadas con solución de Dextrosa 5.0%, y envasadas en frasco de vidrio

transparente o ámbar con tapa rosca plástica y almacenadas a temperaturas de 5, 30 y 40°C, respectivamente.

**Palabras clave:** Warfarina - Anticoagulación - Validación por HPLC - Estabilidad - Preparación extemporánea.

## **Abstract**

Sodium warfarin is one of the most-studied drugs as anticoagulant, because of its important activity, narrow therapeutic index, drug and food interactions and adverse events.

Using an extemporaneous preparation from 5 mg sodium warfarin tablets, is an alternative to control its dosage in order to dispense a more exact and controlled dose than that dispenses by fracturing the tablet.

An HPLC analytical methodology to quantify sodium warfarin in suspension, prepared from one brand and two batches of 5 mg sodium warfarin tablets, was validated. Thereafter a stability study throughout 14 days, at 5, 30 and 40°C, using samples of 30 mL, prepared with NaCl 0.9% and Dextrose 5.0% and packed inside transparent and amber glass containers with plastic stopper and rotating closing, was conducted. Whole samples remaining percentages, had no statistical differences from 100% ( $t_{cal} = 1.251$  for 5°C, 0.650 for 30°C y 0.592 for 40°C;  $t_{tab} = 1.960$ ), whole systems degradation rate constants and confidence intervals for the slope, show samples high stability (NaCl 0.9% transparent container:  $k = 0.0012$  g/100mL hour, CI = 1.268; NaCl 0.9% amber container:  $k = -0.0016$  g/100mL hour, CI = 1.261; Dextrose 5.0% transparent container:  $k = -0.0077$  g/100mL hour, CI = 1.269 y Dextrose 5.0% amber container:  $k = 0.00008$  g/100mL hour, CI = 1.271) and combining of the two batches prepared using NaCl 0.9% and Dextrose 5.0%, was possible ( $F_{cal}$  models = 0.432 y 2.342 respectively y  $F_{tab} = 3.232$ ).

Furthermore, pH values of the samples, from 7.0 to 8.0, helped keeping drug ionized form, which is the most stable. Keeping samples color and appearance throughout the study reinforces this affirmation.

The most stable suspension was that prepared with NaCl 0.9% and packed inside amber glass container with plastic stopper and rotating closing and 5°C of temperature. However, it was not found statistically significant differences in the stability of the samples prepared using Dextrose 5.0%, packed inside transparent or amber glass container with plastic stopper and rotating closing and 5, 30 and 40°C of temperature.

**Key words:** Warfarin - anticoagulation - HPLC Validation - Stability - Extemporaneous preparation.

## Contenido

	<b>Pág.</b>
<b>Resumen</b> .....	6
<b>Abstract</b> .....	8
<b>Lista de figuras</b> .....	15
<b>Lista de tablas</b> .....	16
<b>Lista de anexos</b> .....	18
<b>Lista de símbolos y abreviaturas</b> .....	19
<b>Introducción</b> .....	22
<b>Justificación</b> .....	24
<b>Capítulo I. Objetivos</b> .....	25
Objetivo General .....	25
Objetivos específicos.....	25
<b>Capítulo II. Marco teórico</b> .....	26
2.1. Preparaciones extemporáneas .....	26
2.2. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) .....	26
2.3. Validación de métodos .....	29
2.3.1. Selectividad o especificidad .....	30
2.3.2. Linealidad.....	30
2.3.3. Precisión .....	30
2.3.4. Exactitud .....	31

2.3.5. Límite de detección .....	32
2.3.6. Límite de cuantificación .....	32
2.4. Aspectos farmacológicos de la warfarina .....	32
2.4.1. Mecanismo de acción.....	32
2.4.2. Absorción .....	34
2.4.3. Distribución.....	34
2.4.4. Biotransformación y eliminación .....	34
2.4.5. Variabilidad en la respuesta e interacciones .....	34
2.4.5.1. VKORC1 y CYP2C9.....	35
2.4.5.2. Anticuerpos antifosfolípidos, proteínas Z, S, C y APOE .....	36
2.4.5.3. Etnicidad .....	37
2.4.5.4. Algunas interacciones con fármacos, drogas y alimentos .....	37
2.4.6. Reacciones adversas .....	39
2.4.7. Dosificación y control.....	39
2.4.7.1. Evaluación de satisfacción, adherencia al tratamiento, monitoreo y ajuste de dosis.....	40
2.4.7.2. Papel del personal de la salud.....	43
2.4.8. Antídoto.....	44
2.5. Propiedades fisicoquímicas de la warfarina .....	44
2.6. Estabilidad de la warfarina .....	45
2.7. Presentaciones disponibles en Colombia.....	46
<b>Capítulo III. Materiales y métodos .....</b>	<b>47</b>
3.1. Localización del estudio .....	47
3.2. Estandarización del método .....	47

3.2.1. Condiciones cromatográficas.....	47
3.2.2. Soluciones empleadas en la preparación de estándares y muestras.....	47
3.2.2.1. Hidróxido de sodio 1.0 N .....	47
3.2.2.2. Hidróxido de sodio 0.2 N .....	47
3.2.2.3. Hidróxido de sodio 0.1 N .....	48
3.2.2.4. Buffer pH 7.4 .....	48
3.2.2.5. Mezcla diluyente.....	48
3.2.2.6. Fosfato monobásico de potasio 0.2 M .....	48
3.2.2.7. Ácido clorhídrico 0.1 N.....	48
3.2.2.8. Peróxido de hidrógeno 2.5 %.....	48
3.2.3. Sistema de idoneidad .....	49
3.3. Validación de la metodología.....	49
3.3.1. Selectividad .....	49
3.3.1.1. Selectividad frente a los excipientes.....	49
3.3.1.2. Selectividad frente a los compuestos de degradación .....	50
3.3.2. Linealidad.....	51
3.3.2.1. Linealidad del sistema .....	51
3.3.2.2. Linealidad del método.....	51
3.3.3. Precisión.....	52
3.3.3.1. Repetibilidad.....	52
3.3.3.2. Precisión intermedia .....	52
3.3.4. Exactitud.....	52
3.3.4. Estándares y reactivos .....	52

3.3.5. Materiales y equipos.....	53
3.3.5.1. Materiales.....	53
3.3.5.2. Equipos .....	53
3.4. Estudios de estabilidad.....	54
3.5. Elaboración del protocolo de preparación de la solución extemporánea.....	55
<b>Capítulo IV. Resultados y Discusión .....</b>	<b>56</b>
4.1. Estandarización del método .....	56
4.1.1. Idoneidad del sistema .....	56
4.2. Validación de la metodología.....	56
4.2.1. Selectividad.....	56
4.2.1.1. Frente a los compuestos de degradación.....	56
4.2.1.1.1. Hidrólisis ácida .....	57
4.2.1.1.2. Hidrólisis básica .....	57
4.2.1.1.3. Efecto del calor .....	57
4.2.1.1.4. Oxidación .....	57
4.2.1.1.5. Fotólisis luz solar directa, 254 y 366 nm .....	58
4.2.1.2. Frente a los excipientes .....	58
4.2.2. Linealidad.....	59
4.2.2.1. Linealidad del sistema .....	59
4.2.2.2. Linealidad del método .....	61
4.2.3. Precisión.....	63
4.2.3.1 Repetibilidad del sistema .....	63

4.2.3.2. Repetibilidad del método .....	64
4.2.3.3. Precisión intermedia .....	64
4.2.4. Exactitud .....	65
4.3. Estudios de estabilidad de la preparación extemporánea.....	67
4.4. Protocolo de elaboración de la preparación extemporánea .....	83
4.4.1. Propósito.....	83
4.4.2. Consideraciones importantes.....	83
4.4.3. Materiales .....	83
4.4.4. Materia prima .....	84
4.4.5. Procedimiento .....	84
4.4.5.1. Alistamiento de los materiales posterior a la recepción de la solicitud por parte del médico prescriptor.....	84
4.4.5.2. Preparación de la suspensión .....	84
4.4.6. Acondicionamiento del producto .....	85
4.4.7. Recomendaciones.....	86
<b>Conclusiones</b> .....	87
<b>Recomendaciones</b> .....	88
<b>Bibliografía</b> .....	89
<b>Anexos</b> .....	93
Anexo 1. Cromatograma correspondiente a la hidrólisis ácida .....	93
Anexo 2. Cromatograma correspondiente a la hidrólisis básica (blanco).....	93
Anexo 3. Cromatograma correspondiente a la hidrólisis básica .....	93
Anexo 4. Cromatograma correspondiente al efecto del calor .....	94

Anexo 5. Cromatograma correspondiente a la oxidación.....	94
Anexo 6. Cromatograma correspondiente a la fotólisis por exposición a la luz solar directa .....	94
Anexo 7. Cromatograma correspondiente a la fotólisis por exposición a la luz UV a 254 nm.....	95
Anexo 8. Cromatograma correspondiente a la fotólisis por exposición a la luz UV a 366 nm.....	95
Anexo 9. Cromatograma correspondiente al blanco Dextrosa al 5% .....	95
Anexo 10. Cromatograma correspondiente al blanco NaCl al 0.9%.....	96
Anexo 11. Cromatograma correspondiente a la selectividad frente a todos los excipientes .....	96
Anexo 12. Preparación de la suspensión en los envases transparente y ámbar en NaCl 0.9% .....	97
Anexo 13. Preparación de la suspensión en el envase transparente en Dextrosa 5.0%.....	97
Anexo 14. Muestras a 40°C y 336 h (3 primeras NaCl 0.9% y tres últimas Dextrosa 5.0%) .....	98
Anexo 15. Muestras a 30°C y 336 h (3 primeras NaCl 0.9% y tres últimas Dextrosa 5.0%) .....	98
Anexo 16. Muestras a 5°C y 336 h (3 primeras NaCl 0.9% y tres últimas Dextrosa 5.0%).....	98
Anexo 17. Modelo de etiqueta para una forma farmacéutica extemporánea a partir de tabletas de warfarina sódica .....	99

## **Lista de figuras**

**Figura 1.** Papel de la vitamina K en la carboxilación del ácido glutámico de los factores vitamina K-dependientes en el microsoma hepático. La warfarina inhibe las enzimas reductasas.

**Figura 2.** Estructura química de la warfarina

**Figura 3.** Hidrólisis de la warfarina

**Figura 4.** Disociación ácida de la warfarina

**Figura 5.** Deslocalización de la carga después de la disociación ácida de la warfarina

**Figura 6.** Esquema de selectividad frente a los excipientes

**Figura 7.** Esquema de selectividad frente a los compuestos de degradación

**Figura 8.** Esquema de linealidad (sistema y método)

**Figura 9.** Curva de calibración de la linealidad del sistema

**Figura 10.** Curva de calibración de la linealidad del método

**Figura 11.** Gráfico líneas de regresión para los lotes 1 y 2 en NaCl 0.9%

**Figura 12.** Gráfico líneas de regresión para los lotes 1 y 2 en Dextrosa 5.0%

**Figura 13.** Gráfico de regresión para los lotes 1 y 2 en NaCl 0.9% y envase transparente

**Figura 14.** Gráfico de regresión para los lotes 1 y 2 en NaCl 0.9% y envase ámbar

**Figura 15.** Gráfico de regresión para los lotes 1 y 2 en Dextrosa 5.0% y envase transparente

**Figura 16.** Gráfico de regresión para los lotes 1 y 2 en Dextrosa 5.0% y envase ámbar

## **Lista de tablas**

**Tabla 1.** Datos de la idoneidad del sistema

**Tabla 2.** Datos de la linealidad del sistema

**Tabla 3.** Prueba t de Student para la linealidad del sistema

**Tabla 4.** Prueba F de Fisher y ANOVA para la linealidad del sistema

**Tabla 5.** Datos de la linealidad del método

**Tabla 6.** Prueba t de Student para la linealidad del método

**Tabla 7.** Prueba F de Fisher y ANOVA para la linealidad del método

**Tabla 8.** Datos de la repetibilidad del sistema

**Tabla 9.** Datos de la repetibilidad del método

**Tabla 10.** Datos de la precisión intermedia

**Tabla 11.** Prueba F de Fisher y ANOVA para la precisión intermedia

**Tabla 12.** Datos de la exactitud

**Tabla 13.** Prueba t de Student para la exactitud

**Tabla 14.** Prueba G de Cochran exactitud

**Tabla 15.** Datos estabilidad a tiempo cero

**Tabla 16.** Datos estabilidad a 12 horas

**Tabla 17.** Datos estabilidad a 24 horas

**Tabla 18.** Datos estabilidad a 48 horas

**Tabla 19.** Datos estabilidad a 72 horas

**Tabla 20.** Datos estabilidad a 96 horas

**Tabla 21.** Datos estabilidad a 336 horas

**Tabla 22.** Prueba t de Student para % remanente y desviación estándar para el pH por temperatura y datos totales

**Tabla 23.** Datos para la prueba F de Fisher para la combinación de lotes en NaCl 0.9%

**Tabla 24.** Datos de regresión del lote 1, 2 y ambos en NaCl 0.9%

**Tabla 25.** Prueba F de Fisher para la combinación de los lotes 1 y 2 en NaCl 0.9%

**Tabla 26.** Datos para la prueba F de Fisher para la combinación de lotes en Dextrosa 5.0%

**Tabla 27.** Datos de regresión del lote 1, 2 y ambos en Dextrosa 5.0%

**Tabla 28.** Prueba F de Fisher para la combinación de los lotes 1 y 2 en Dextrosa 5.0%

**Tabla 29.** Datos de regresión para los dos tipos de envase en NaCl 0.9%

**Tabla 30.** Datos de regresión para los dos tipos de envase en Dextrosa 5.0%

**Tabla 31.** Constantes de velocidad de descomposición para los diferentes sistemas

**Tabla 32.** Intervalos de confianza para los sistemas en NaCl 0.9%

**Tabla 33.** Intervalos de confianza para los sistemas en Dextrosa 5.0%

## **Lista de anexos**

- Anexo 1.** Cromatograma correspondiente a la hidrólisis ácida
- Anexo 2.** Cromatograma correspondiente a la hidrólisis básica (blanco)
- Anexo 3.** Cromatograma correspondiente a la hidrólisis básica
- Anexo 4.** Cromatograma correspondiente al efecto del calor
- Anexo 5.** Cromatograma correspondiente a la oxidación
- Anexo 6.** Cromatograma correspondiente a la fotólisis por exposición a la luz solar directa
- Anexo 7.** Cromatograma correspondiente a la fotólisis por exposición a la luz UV a 254 nm
- Anexo 8.** Cromatograma correspondiente a la fotólisis por exposición a la luz UV a 366 nm
- Anexo 9.** Cromatograma correspondiente al blanco Dextrosa al 5%
- Anexo 10.** Cromatograma correspondiente al blanco NaCl al 0.9%
- Anexo 11.** Cromatograma correspondiente a la selectividad frente a todos los excipientes
- Anexo 12.** Preparación de la suspensión en los envases transparente y ámbar en NaCl 0.9%
- Anexo 13.** Preparación de la suspensión en el envase transparente en Dextrosa 5.0%
- Anexo 14.** Muestras a 40°C y 336 h (3 primeras NaCl 0.9% y tres últimas Dextrosa 5.0%)
- Anexo 15.** Muestras a 30°C y 336 h (3 primeras NaCl 0.9% y tres últimas Dextrosa 5.0%)
- Anexo 16.** Muestras a 5°C y 336 h (3 primeras NaCl 0.9% y tres últimas Dextrosa 5.0%)
- Anexo 17.** Modelo de etiqueta para una forma farmacéutica extemporánea a partir de tabletas de warfarina sódica.

## Lista de símbolos y abreviaturas

<b>TP</b>	Tiempo de protrombina
<b>INR</b>	Proporción internacional normalizada
<b>IV</b>	Vía de administración intravenosa
<b>IUPAC</b>	Unión Internacional para la Química Pura y Aplicada
<b>LSC</b>	Cromatografía líquido-sólido
<b>C18</b>	Sustituyente alquílico con 18 carbonos
<b>C8</b>	Sustituyente alquílico con 8 carbonos
<b>USP</b>	Farmacopea de los Estados Unidos
<b>WHO (OMS)</b>	Organización mundial de la salud
<b><math>\sigma</math> (SD) (S)</b>	Desviación estándar
<b>RSD</b>	Desviación estándar relativa
<b>CV</b>	Coefficiente de variación
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno molecular
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>L</b>	Litros
<b>kg</b>	Kilogramos
<b>mL</b>	Mililitros
<b>min</b>	Minutos
<b>h</b>	Horas
<b>VKORC1</b>	Complejo 1 de la enzima vitamina K epóxido reductasa
<b>CYP2C9</b>	Isoforma 2C9 del complejo enzimático citocromo P450
<b>mg</b>	Miligramos
<b>r<sup>2</sup></b>	Factor de determinación

<b>p</b>	Nivel de confianza
<b>APOE</b>	Apolipoproteína E
<b>SAFL</b>	Síndrome antifosfolípido
<b>aFL</b>	Antifosfolípidos
<b>µg</b>	Microgramos
<b>FDA</b>	Oficina para la administración de alimentos y medicamentos
<b>ISI</b>	Índice de sensibilidad internacional
<b>DASS</b>	Escala de satisfacción de anticoagulación Duke
<b>TTR</b>	Tiempo en rango terapéutico
<b>POC</b>	Punto de atención
<b>SC</b>	Vía de administración subcutánea
<b>g</b>	Gramos
<b>°C</b>	Grados centígrados
<b>HCl</b>	Ácido clorhídrico
<b>pH</b>	Logaritmo negativo de la concentración de hidrógenos
<b>pKa</b>	Logaritmo negativo de la constante ácida
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>µL</b>	Microlitros
<b>NaOH</b>	Hidróxido de sodio
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Fosfato monobásico de potasio
<b>G.R.</b>	Grado reactivo
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrógeno
<b>FD&amp;C</b>	Alimentos, medicamentos y cosméticos
<b>NaCl</b>	Cloruro de sodio

<b>K'</b>	Factor de capacidad
<b>H<sub>0</sub></b>	Hipótesis nula
<b>a (α)</b>	Intercepto
<b>b (β)</b>	Pendiente
<b>t<sub>exp (obs)</sub></b>	Valor experimental, calculado u observado con la prueba t de Student
<b>t<sub>tab</sub></b>	Valor tabulado con la prueba t de Student
<b>n</b>	Número de datos
<b>r</b>	Factor de correlación
<b>F<sub>exp (cal)</sub></b>	Valor experimental o calculado con la prueba F de Fisher
<b>F<sub>tab</sub></b>	Valor tabulado con la prueba F de Fisher
<b>G<sub>cal</sub></b>	Valor experimental o calculado con la prueba G de Cochran
<b>G<sub>tab</sub></b>	Valor tabulado con la prueba G de Cochran
<b>T</b>	Temperatura
<b>TAB</b>	Tableta
<b>SY<sup>2</sup></b>	Sumatoria de los "y" cuadrados
<b>SY</b>	Sumatoria de los "y"
<b>SXY</b>	Sumatoria de los "xy"
<b>SCR</b>	Sumatoria de los cuadrados de la regresión
<b>gln</b>	Grados de libertad del numerador
<b>gld</b>	Grados de libertad del denominador
<b>k</b>	Constante de velocidad de degradación
<b>S<sup>2</sup>XY</b>	Sumatoria de los cuadrados de "xy"

## Introducción

La elaboración de preparaciones extemporáneas a nivel hospitalario, es una práctica frecuente con el fin de facilitar la dosificación y entrega de medicamentos a pacientes, que por sus estados patológicos no los pueden usar en forma directa, o con el fin de no invadirlo vascularmente; haciéndose necesario realizar la transformación de medicamentos comerciales, fundamentalmente sólidos en forma de tabletas, en preparaciones para ser usadas en forma inmediata o en períodos cortos de tiempo.

La warfarina sódica es un fármaco que a pesar de haber sido probado clínicamente por primera vez como anticoagulante en 1953 en Estados Unidos, sigue siendo uno de los fármacos de mayor interés. Desde su desarrollo ha presentado diversos desafíos que van desde su estructura química hasta su interacción con otros fármacos y alimentos además de sus eventos adversos. Desde su aplicación como anticoagulante, se presentaron problemas para su aislamiento así como para la purificación de sus racematos, investigación que duró más de 20 años hasta que en 1973 se obtuvo los cristales de warfarina de la mezcla racémica y en 1975 la S(-)-warfarina, confirmándose el tautomerismo de esta molécula por cristalografía solo hasta 2003. (Porter, 2010)

La warfarina sódica es un fármaco de índice terapéutico estrecho y la dosis debe ser controlada mediante determinaciones periódicas del tiempo de protrombina (TP)/Proporción Normalizada Internacional (INR) u otras pruebas de coagulación adecuadas. Además el tratamiento para cada paciente debe ser totalmente individualizado.

La warfarina sódica puede ser administrada por vía IV y peroral, sin embargo el efecto anticoagulante completo de una dosis de warfarina, independientemente de la vía seleccionada para su administración, corresponde al tiempo que debe transcurrir hasta que se agoten los factores de coagulación, cuyas semividas son de 6 horas para el factor VII, 24 horas para el factor IX, 40 horas para el factor X y 60 horas para el factor II, lo cual indica que la administración intravenosa no proporciona un efecto biológico aumentado o un comienzo más rápido del efecto respecto a la vía peroral. (Flórez, Armijo, & Mediavilla, 1997)

Una revisión de los casos clínicos, indica que la prevalencia de las hemorragias graves va del 1 al 3% por año en los grupos de alto riesgo. Las hemorragias leves que se presentan, se corrigen generalmente con un ajuste de la dosis o con administración de vitamina K, mientras que las graves requieren del reemplazo de los factores II, VII, IX y X de forma urgente. (Lankiewicz, Hays, Friedman, Tinkoff, & Blatt, 2006)

La utilización de una preparación extemporánea, elaborada a partir de tabletas de warfarina sódica, brindará por lo tanto una alternativa para el control de la dosificación, ya que se podrá a través de ésta, administrar una dosis más exacta y controlada, que la administrada por la fractura de la tableta. Los estudios de estabilidad efectuados para este tipo de preparaciones son por lo tanto una necesidad y contribuyen a un mejor manejo y administración segura de los fármacos. Por tal razón, se hizo necesario desarrollar estudios de estabilidad física y química, que demuestren la eficacia, potencia y seguridad de la preparación extemporánea a partir de tabletas de warfarina sódica, además de poder determinar las mejores condiciones para su almacenamiento y recomendaciones de uso.

## **Justificación**

La posibilidad de utilizar fármacos cumarínicos como la warfarina sódica y administrados por vía peroral, ha brindado tanto a los médicos como a los pacientes, una terapia eficaz como anticoagulante, pero es uno de los fármacos asociados con alta incidencia de efectos indeseables; su reacción adversa más común y peligrosa es el sangrado, que puede llegar a ser fatal. Al estrecho margen terapéutico del fármaco se agrega la gran variabilidad interindividual en la respuesta al tratamiento, así como sus numerosas interacciones farmacológicas, factores que se conjugan para hacer de la warfarina un fármaco difícil de manejar, con un importante número de pacientes que oscilan entre el riesgo de sangrado y la insuficiente anticoagulación. (Isaza, Henao, & Beltrán, 2010)

Se hace necesario para su administración el considerar el estado físico y los estados patológicos del paciente, requiriéndose de un monitoreo constante del mismo y un ajuste o supresión de la dosis de warfarina sódica administrada, siendo la preparación extemporánea una posible solución para facilitar el ajuste de dicha dosis cuando el paciente lo requiera.

Este fármaco, con base en sus propiedades fisicoquímicas, requiere de la utilización de vehículos compatibles y de condiciones específicas de manipulación y almacenamiento, teniendo en cuenta su importancia como anticoagulante; requiriéndose de los estudios de estabilidad respectivos que permitan fijar las condiciones adecuadas de almacenamiento, así como el ajuste de las condiciones fisicoquímicas del vehículo para garantizar su eficacia y uso seguro.

Por lo tanto, en esta investigación se realizaron los estudios de estabilidad física y química de una preparación extemporánea de warfarina sódica, elaborada a partir de tabletas de 5 mg del mercado nacional y utilizando un vehículo de uso hospitalario, además se elaboró el protocolo de preparación, estableciendo las mejores condiciones de almacenamiento con el fin de usar racionalmente y en forma segura esta preparación en beneficio del paciente.

## **Capítulo I. Objetivos**

### **Objetivo General**

Determinar la estabilidad física y química de una preparación extemporánea de warfarina sódica, partiendo de una tableta del mercado nacional.

### **Objetivos específicos**

1. Validar la metodología analítica para la cuantificación de una preparación extemporánea de warfarina sódica mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
2. Definir experimentalmente un vehículo de uso hospitalario, que favorezca la estabilidad de una preparación extemporánea de warfarina sódica.
3. Establecer el tiempo de vida útil de la preparación extemporánea.
4. Elaborar un protocolo para la preparación extemporánea de warfarina sódica, así como las recomendaciones para su almacenamiento y uso racional.

## **Capítulo II. Marco teórico**

### **2.1. Preparaciones extemporáneas**

Dentro del ámbito hospitalario, las preparaciones magistrales se clasifican en formulaciones normalizadas y preparaciones extemporáneas. Las primeras son aquellas aprobadas por el comité de farmacia y terapéutica para uso general en el hospital. Las segundas son aquellas que no se preparan de forma rutinaria, sino solamente para atender las necesidades de un paciente específico. La transformación de estos medicamentos forma parte de una de las responsabilidades más antiguas del farmacéutico de hospital la cual se ve sustentada en las necesidades o requerimientos específicos de pacientes que por sus características no pueden hacer uso de formas farmacéuticas comercialmente disponibles. Por lo tanto es necesario recurrir a realizar un reenvasado, que es definido como el procedimiento por el cual un medicamento se envasa para que pueda ser administrado al paciente en las dosis prescritas por el médico y que deba reunir los siguientes requisitos:

- Contener una cantidad de fármaco para una sola toma.
- Proporcionar una adecuada protección del contenido frente a los agentes ambientales.
- Permitir una fácil y completa identificación.
- Permitir ser administrado directamente del envase sin necesidad de ninguna manipulación adicional. (Herreros, 1997; Borrás, Pérez, & Jiménez, 1999; Bonal & Domínguez, 1992)

### **2.2. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**

Según define la IUPAC, “La Cromatografía es un método, usado principalmente para la separación de los componentes de una muestra, en la cual los componentes se distribuyen en dos fases, una de las cuales es estacionaria, mientras la otra se mueve. En HPLC la fase móvil es el parámetro que gobierna la separación. Con una sola columna es posible separar sustancias polares, iónicas, ionizables y no polares simplemente modificando la composición de la fase móvil. Además, la selectividad aportada por la amplia variedad de solventes aptos para ser empleados como fase móvil en HPLC, le otorgan mucha mayor versatilidad. Si la fase estacionaria es un sólido y la fase móvil un líquido la cromatografía se denomina cromatografía líquido-sólido (LSC).

Básicamente, los equipos HPLC pueden clasificarse en integrados y modulares.

En los primeros, cada una de las partes (reservorio de solventes, bomba, inyector, horno y detector) están reunidas en un gabinete. En los segundos, los módulos son instrumentos individuales que permiten no solo armar el equipo según la necesidad del analista sino aumentar su complejidad según varíe.

El *reservorio* es el recipiente que contiene la fase móvil. Puede emplearse como reservorio cualquier frasco de laboratorio de buena calidad (de vidrio o polímero resistente), con una buena tapa para impedir el ingreso de partículas ambientales al sistema (se puede utilizar para asegurar el no ingreso de partículas un papel polimérico adecuado). Al extremo del tubo de salida de solvente se conecta un filtro de acero o vidrio (buzo) con 2 a 10  $\mu\text{m}$  de porosidad que impide el ingreso de partículas a la bomba. Además el reservorio de la fase móvil debe estar bien identificado, indicando, en lo posible, las proporciones de los componentes contenidos en el mismo. Es importante recalcar que la fase móvil debe ser filtrada y desgasificada al igual que todos los solventes sin importar que sean grado HPLC, utilizando filtros de 0.22  $\mu\text{m}$  y sonicándolos por 10 minutos.

La fase móvil empleada en HPLC debe circular por *tuberías* que conectan el reservorio de solvente con la bomba, la bomba con el inyector, el inyector con la columna cromatográfica y éste con uno o más detectores conectados en serie, y eventualmente con un colector de fracciones o válvulas de distribución. Los materiales más empleados para éstas son el teflón y el acero inoxidable, estando las últimas presentes en los segmentos donde se experimenta mayor presión, por ejemplo de la bomba al inyector. También tienen diferentes diámetros internos, siendo menores en aquellas tuberías donde circula la muestra (hasta 0.2 mm).

Las *uniones* permiten conectar las tuberías, y con ellas, los distintos componentes del sistema cromatográfico.

Las *bombas* impulsan la fase móvil proveniente del reservorio de solvente hacia el inyector, y de allí hacia la columna. Básicamente existen dos tipos de bomba: las de pistón (bombas reciprocantes) y las de desplazamiento continuo (bombas jeringa). Las bombas deben entregar caudales constantes y exactos, producir poco ruido y baja deriva y contar con sistemas de corte de caudal en caso de presentarse caídas o aumentos drásticos de presión.

Es común que existan *sistemas de desgasificación* entre los reservorios de fase móvil y la bomba que ayudan a asegurar un reducido acceso de aire al sistema.

El *inyector* es el dispositivo que permite introducir la muestra en solución sin interrumpir el caudal de solvente a través del sistema. Debe ser fácil de operar, inerte al ataque químico y capaz de soportar altas presiones, debe ser preciso en cuanto a la cantidad de muestra introducida en el sistema, no debe provocar diluciones importantes de la solución inyectada y operar a altas temperaturas. La muestra inyectada está contenida en viales, los cuales pueden ser transparentes o ámbar, poseen tapa rosca y septos que evitan la evaporación de la solución diluyente de los estándares y muestras. Cabe recalcar que antes de llevar las soluciones de estándar o muestra a dichos viales se deben filtrar a través de filtros de 0.45 µm para evitar el taponamiento de la aguja del inyector y no se debe llenar por completo el vial sino hasta la marca final del mismo, para permitir el desplazamiento de volumen generado por la aguja e impedir, por lo tanto, que se inyecte aire. Se recomienda utilizar viales, tapas y septos de la misma marca del equipo HPLC.

El *horno* es la parte del equipo cromatográfico donde se conecta la fase estacionaria o columna cromatográfica. Permite calentar (o calentar y enfriar) la fase móvil antes de llegar a la columna y a la columna misma, empleando termostatos, con el fin de optimizar la resolución de los “picos” cromatográficos.

Las *columnas* pueden ser de acero inoxidable o de otros materiales poliméricos y poseer diferentes dimensiones, así como diferentes rellenos dependiendo de la fase cromatográfica con la que se trabaja. Esto es, para la cromatografía en fase reversa en la cual la fase móvil en general está constituida por un solvente polar, mezcla de agua y un modificador orgánico, a los que se les puede agregar aditivos sales y buffers, la fase estacionaria está constituida por un sustituyente, siendo el más empleado el de tipo alquílico, especialmente C18 y en menor proporción C8, con o sin encapado, con menor o mayor grado de cobertura.

En la cromatografía en fase normal la fase estacionaria está constituida por materiales polares con grupos como diol, ciano, nitro, amino y la fase móvil es no polar como el hexano.

El *detector* es la parte del equipo cromatográfico que permite “ver” y ubicar en tiempo y espacio la posición de cada componente de una muestra a la salida de la columna cromatográfica. Debe tener un amplio rango dinámico de respuesta, poseer una respuesta lineal, no contribuir al ensanchamiento de banda extracolumnar, responder a todos los solutos, tener la sensibilidad apropiada, no afectarse por cambios de temperatura, poseer una buena relación señal/ruido, no destruir la muestra y tener una constante de tiempo baja.

El *recipiente de desechos* es la parte del equipo cromatográfico donde se recogen los solventes después de salir de este. Puede ser una botella de vidrio o de un material de plástico resistente, generalmente de volúmenes iguales o mayores a 4 litros con el fin de permitir la realización del mayor número de análisis sin que estos se derramen. Se debe identificar de forma adecuada, asegurándose de tachar la etiqueta de la botella si se reutiliza una que haya pertenecido, por ejemplo, a un solvente. Las tuberías de salida provienen de la bomba (purga) y del detector.

El *sistema de toma y procesamiento de datos* registra y manipula la señal proveniente del detector por medio de un registrador gráfico, un integrador y una computadora.

(Quattrocchi, De Andrizzi, & Laba, 1992)

### **2.3. Validación de métodos**

La validación de un método analítico se define como el proceso mediante el cual se establece por estudios de laboratorio que la eficiencia del método satisface los requisitos para posteriores aplicaciones analíticas. (USP 35, 2012)

Los métodos analíticos deben ser validados o verificados, evaluándose tanto la exactitud como la precisión. Estos métodos también deben incluir pruebas para los compuestos relacionados o productos de degradación, evaluándose la selectividad. (WHO, 1996)

Una vez desarrollado un método de análisis por HPLC, al igual que toda técnica analítica, deberá validarse, es decir, se debe confirmar y documentar que los resultados por él producidos son confiables.

Evidentemente, todo nuevo método analítico debe validarse para demostrar su idoneidad, pero frecuentemente nos encontramos con metodologías antiguas, aplicadas durante mucho tiempo, con las que tiene poco sentido encarar una validación como si fuera una metodología desconocida. Para estos casos, puede definirse una *validación retrospectiva*, donde se pueden combinar los nuevos criterios de validación con toda la experiencia ya adquirida. En contrapartida, para diferenciarla de la anterior, llamaremos *validación prospectiva* a la que encaramos frente a un producto nuevo. (Quattrocchi et al., 1992)

### **2.3.1. Selectividad o especificidad**

Este parámetro se refiere a la propiedad del método de producir una señal medible debida solo a la presencia del analito, libre de interferencia de otros componentes, en la matriz de la muestra. Estos componentes pueden ser excipientes de un fármaco, productos de degradación, subproductos o productos laterales de síntesis de un fármaco, metabolitos del mismo analito en un fluido biológico, etc.

En el caso del análisis de un fármaco, resulta de gran utilidad contar con las materias primas, subproductos de síntesis y productos de degradación. De ser así, la selectividad puede controlarse simplemente por la adición de, por ejemplo, 1% de cada posible interferente al estándar del fármaco, verificando la separación cromatográfica.

### **2.3.2. Linealidad**

La linealidad de un método analítico se refiere a la proporcionalidad entre la concentración de analito y su respuesta. Además, conjuntamente se determina el rango lineal, es decir, el intervalo comprendido entre la concentración mínima y máxima de analito para el cual el método ha sido probado y dentro del cual se puede efectuar el dosaje por interpolación en una curva estándar.

Para su determinación se prepara una serie de al menos cinco diluciones de un estándar, comprendiendo los ámbitos estimados de trabajo. Normalmente el intervalo de concentraciones se utiliza entre el 50 y el 150% de la concentración de trabajo, aunque ello puede depender del tipo de ensayo. Se recomienda el trabajo con dos o más réplicas.

Estas soluciones se inyectan al menos por duplicado y se determina la curva de regresión,  $Y = bX + a$ , sobre los puntos individuales de las réplicas sin promediar por el método de los cuadrados mínimos. Posteriormente se grafica para su documentación.

### **2.3.3. Precisión**

La precisión describe la concordancia entre los valores numéricos de dos o más medidas replicadas o medidas que se ha realizado exactamente de la misma forma. En general, la precisión de un método analítico se obtiene fácilmente mediante la simple repetición de la medida. (Skoog, Holler, & Nieman, 2001)

La precisión se expresa matemáticamente como la desviación estándar,  $\sigma$ , estimada analíticamente por “s” o más comúnmente como la desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV).

Generalmente la precisión se evalúa a tres niveles de concentración.

La precisión de un método analítico deberá estudiarse sobre:

El *sistema*, evaluando la dispersión de al menos 6 inyecciones del estándar.

El *método*, evaluando la dispersión de varias preparaciones de la muestra final homogénea. La evaluación corresponde a todo el procedimiento, desde la preparación de la muestra hasta la medición del analito por parte del instrumento. Así por ejemplo, resulta necesario considerar la imprecisión causada por las pesadas y las diluciones, factores frecuentemente olvidados.

En este caso, la precisión debe medirse en condiciones *repetitivas* (mismo analista, mismo día, mismo instrumento) y en condiciones *de precisión intermedia* (diferente analista, diferente día, diferente instrumento). (Quattrocchi et al., 1992)

#### **2.3.4. Exactitud**

La exactitud de un método, también conocida como *error sistemático* o *tendencia*, corresponde a la diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor verdadero o que se supone como verdadero.

Matemáticamente, suele expresarse de los siguientes modos:

Desviación:  $B = X - X'$

Desviación relativa:  $\%B = B / X * 100$

Recuperación:  $R = X / X' * 100$

Donde X es el valor medio y X' el valor verdadero.

De todas ellas la más utilizada es, sin lugar a dudas, la recuperación. En algunos casos no se conoce el verdadero valor, por lo cual se trabaja con muestras adicionadas o mediante comparación con un método de referencia o un método indexado.

### **2.3.5. Límite de detección**

El límite de detección es el nivel más bajo de analito que puede detectarse, pero no necesariamente determinarse en forma cuantitativa, empleando un método específico bajo las condiciones experimentales exigidas. Dicho límite generalmente se expresa en términos de concentración de analito, por ejemplo, en microgramos por litro. Como generalmente la medición final se basa en la lectura de un instrumento, se deberá tener en cuenta la respuesta de fondo o ruido.

### **2.3.6. Límite de cuantificación**

El límite de cuantificación es la concentración más baja de analito, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables cuando se emplea el procedimiento exigido. Se mide mediante el análisis de muestras que contengan cantidades conocidas de analito en disminución, y la determinación del nivel más bajo al cual pueden alcanzarse grados aceptables de exactitud y precisión. De nuevo es a veces necesario evaluar y tener en cuenta la magnitud de la respuesta de fondo (ruido). En muchos casos, el límite de cuantificación es aproximadamente dos o tres veces el límite de detección. (Quattrocchi et al., 1992)

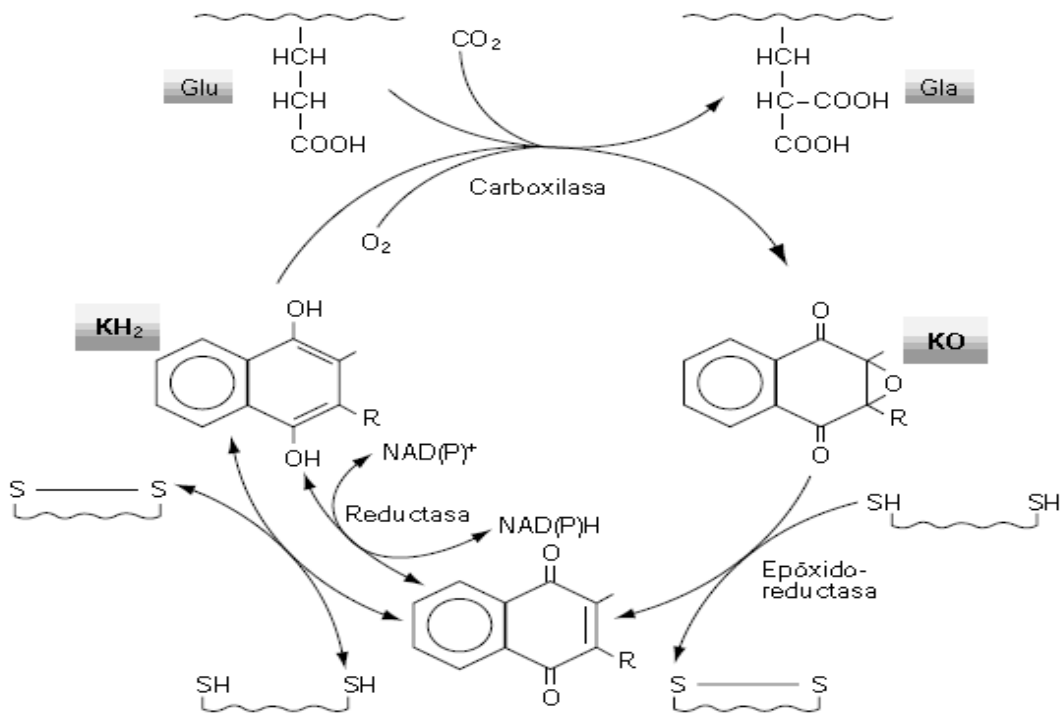
## **2.4. Aspectos farmacológicos de la warfarina**

### **2.4.1. Mecanismo de acción**

A diferencia de la heparina, la acción anticoagulante sólo se produce in vivo, requiriendo un período de latencia que oscila entre 12 y 24 horas. Su mecanismo fundamental es alterar la acción de la vitamina K, elemento esencial para terminar de sintetizar en el hígado cuatro proenzimas o zimógenos factores de la coagulación: II, VII, IX y X. Estas cuatro proteínas contienen ácido  $\gamma$ -carboxiglutámico, un aminoácido formado por la acción postranslacional de una  $\gamma$ -glutamylcarboxilasa dependiente de vitamina K sobre determinados residuos glutamilo. Los residuos de  $\gamma$ -carboxiglutámico se encuentran cerca de la porción aminoterminal de las proteínas, en cantidad de 10 por molécula de protrombina y factor VII, y 12 por molécula de factor IX y X. Estos residuos dotan a las proteínas dependientes de vitamina K de la propiedad de fijarse a las superficies de fosfolípidos si existen iones calcio. Esta fijación es esencial para activar fisiológicamente los factores en los que la rotura de un enlace peptídico específico

convierte a un precursor de la coagulación en una serín-proteasa. Así, por ejemplo, la velocidad con que el factor Xa convierte a la protrombina en trombina aumenta en varios órdenes de magnitud si hay calcio y fosfolípidos. Para que la vitamina K pueda actuar como cofactor de la  $\gamma$ -glutamylcarboxilasa, necesita estar en forma reducida como hidroquinona, lo que se consigue mediante una serie de quinona-reductasas. En una reacción que requiere  $O_2$  molecular, la hidroquinona media la cesión de un protón del carbono del residuo glutámico de la proteína, adicionándose entonces  $CO_2$  a ese carbono para formar el ácido  $\gamma$ -carboxiglutámico. En esta reacción se forma un epóxido de vitamina K que es inactivo, pero otra enzima, la vitamina K-epóxido-reductasa, reduce el epóxido para convertirlo de nuevo en quinona activa.

Los fármacos cumarínicos tienen la capacidad de inhibir las quinona-reductasas y la vitamina K-epóxido-reductasa. Por lo tanto, en su presencia se va consumiendo la cantidad existente de hidroxiquinona (activa) hasta que se agota y las proteínas dependientes de vitamina K van saliendo al plasma en forma sólo parcialmente carboxilada, es decir, inactivas. (Flórez et al., 1997) (Figura 1)



**Figura 1.** Papel de la vitamina K en la carboxilación del ácido glutámico de los factores vitamina K-dependientes en el microsoma hepático. La warfarina inhibe las enzimas reductasas.

### **2.4.2. Absorción**

La biodisponibilidad de la warfarina sódica racémica es casi completa cuando el fármaco se administra por vía peroral, intramuscular, intravenosa o rectal. De cualquier modo, las distintas formas farmacéuticas de warfarina varían en cuanto al tiempo de liberación y de disolución del fármaco, lo cual genera cierta variación de la tasa de absorción y el grado de la misma. Los alimentos en el tubo digestivo también pueden disminuir la tasa de absorción. La warfarina suele ser detectable en el plasma antes de una hora luego de su administración peroral y las concentraciones alcanzan un máximo de dos a ocho horas.

### **2.4.3. Distribución**

La warfarina está unida casi por completo a proteínas plasmáticas (99%), principalmente a la albúmina y el fármaco se distribuye con rapidez en un volumen equivalente al espacio de albúmina (0.14 L/kg). Las concentraciones en el plasma fetal se aproximan a las cifras maternas, pero no se encuentra warfarina activa en la leche (al contrario de otras cumarinas e indandionas).

### **2.4.4. Biotransformación y eliminación**

En el metabolismo hepático y renal, la warfarina se transforma en metabolitos inactivos que se excretan en la orina y las heces. La tasa promedio de depuración respecto del plasma es de  $0.045 \text{ mL min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ . La vida media varía de 25 a 60 h, con una media de alrededor de 40 h; la duración de la acción de la warfarina es de dos a cinco días. (Bruton, Lazo, & Keith, 2006)

### **2.4.5. Variabilidad en la respuesta e interacciones**

A lo largo de un tratamiento prolongado con anticoagulantes perorales pueden cambiar los niveles endógenos de vitamina K como consecuencia de modificaciones en la dieta (alimentos pobres o ricos en vitamina K) o en la capacidad absorptiva (síndromes de pobre absorción en grasa y diarreas); el estado de la función hepática puede fluctuar, lo cual repercute sobre el metabolismo de la vitamina K, de los factores de la coagulación dependientes de ella y del propio anticoagulante. También es muy probable que durante el tratamiento haya que utilizar otros fármacos, sea de forma continuada o intermitente, a causa de otras enfermedades o molestias que aparezcan. Estos fármacos acompañantes son fuente de numerosas

interacciones, de carácter farmacocinético o farmacodinámico. Aunque existe un número alto de interacciones, es preciso restringirlas a las que clínicamente han demostrado tener una clara repercusión. Las interacciones de carácter farmacodinámico se refieren a modificaciones en el estado de la vitamina K y de los factores endógenos dependientes de ella, a modificaciones provocadas por fármacos sobre las funciones cardíaca, hepática y renal, con la consiguiente repercusión sobre la síntesis de estos elementos, o a modificaciones provocadas sobre otros parámetros de la hemostasia y la coagulación (cambios en la función plaquetaria o en la fibrinólisis). Las interacciones de carácter farmacocinético tienen que ver con cambios inducidos sobre la absorción, la unión a proteínas y la excreción del anticoagulante, con especial importancia en los cambios del metabolismo (inducción o inhibición). Cabe destacar la importancia clínica que puede alcanzar la interacción estereoespecífica. La warfarina S es 5 veces más potente que la R; por lo tanto, fármacos que inhiban el aclaramiento metabólico del isómero S prolongarán el tiempo de protrombina mucho más que los que inhiban el aclaramiento del isómero R. (Flórez et al., 1997)

#### **2.4.5.1. VKORC1 y CYP2C9**

Liyan Miao, Jian Yang, Chenrong Huang & Zhenya Shen (2007) evaluaron la contribución de la edad, peso corporal y el polimorfismo del *CYP2C9* y *VKORC1* en la respuesta anticoagulante de la warfarina en 178 pacientes Chinos con requerimiento de una dosis estable de warfarina y un INR entre 1.5 y 3. Los pacientes con el genotipo *VKORC1* (-1639 GG+GA) y *CYP2C9*\*1/\*1 ( $3.32 \pm 1.02$  mg/día), requerían una dosis más alta que aquellos con el genotipo *VKORC1* (-1639 AA) y *CYP2C9*\*1/\*3 ( $1.60 \pm 1.29$  mg/día). De igual forma el modelo de regresión lineal múltiple mostró contribuciones significativas a partir de la edad y el peso ( $r^2 = 0.084$ ;  $P < 0.001$ ) y ( $r^2 = 0.063$ ;  $p < 0.001$ ), respectivamente. Se concluyó que estos factores afectan en la población estudiada las dosis requeridas de warfarina, en una terapia a largo plazo y con un control estable de la anticoagulación.

La *CYP2C9* es una enzima del complejo mayor del citocromo P450 involucrada en el metabolismo de una amplia variedad de agentes terapéuticos, incluyendo antiinflamatorios (diclofenaco, flurbiprofeno, naproxeno, ibuprofeno, ácido mefenámico), hipoglicemiantes orales (tolbutamina, glipizida), anticoagulantes orales (warfarina, acenocumarol), diuréticos y uricosúricos (torasemida), bloqueadores de la angiotensina II (losartán), antiasmáticos (zafirlukast), anticonvulsivantes (fenitoína, fenobarbital), agentes anticancerígenos (ciclofosfamida), compuestos endógenos (ácido araquidónico) y

misceláneos (benzopireno, sildenafil). La disrupción de la actividad de la CYP2C9 por inhibición metabólica o por variabilidad farmacogenética, es la razón principal de las reacciones adversas relacionadas con esta enzima. (Rettie & Jones, 2005; D'Andrea, D'Ambrosio, & Margaglione, 2007)

Hay que considerar el hecho de que aún hay gran desconocimiento sobre la variabilidad genética entre individuos, falta de especificaciones analíticas y de calidad, falta de análisis para evaluar la relación costo/efectividad, diversidad universal de opiniones respecto a los algoritmos de dosificación y otros asuntos sociales y éticos. (Lippi, Franchini, & Favaloro, 2009)

También se debe tener en cuenta que el CYP2C9 y la S-warfarina no son los únicos determinantes metabólicos en la respuesta de la warfarina. En algunos casos las rutas metabólicas para la R-warfarina, pueden jugar un papel igual de importante en la terapia anticoagulante. De hecho, la regulación genética y enzimática relaciona a los dos isómeros de la warfarina, es decir, que ambos mecanismos en conjunto contribuyen con el metabolismo del fármaco. (Miller, 2010)

#### **2.4.5.2. Anticuerpos antifosfolípidos, proteínas Z, S, C y APOE**

El síndrome antifosfolipídico (SAFL) representa una entidad que se manifiesta como trombosis arteriales o venosas y pérdidas fetales recurrentes. La beta2GP1 y la protrombina humana son las proteínas más involucradas en la unión de los aFL, con las superficies fosfolipídicas. Otras proteínas vitamino-K dependientes, como las proteínas C y S, han sido propuestas como antígenos potenciales para los aFL. La proteína Z humana constituye una proteína vitamina K dependiente. Su estructura es homóloga a la de los factores II, VII, IX y X, así como a la de las proteínas C y S. Promueve la unión de la trombina a las superficies fosfolipídicas de una manera calcio-dependiente. También sirve como cofactor para la inhibición del factor Xa por el inhibidor de proteasa PZ-dependiente.

El rol de las superficies fosfolipídicas en la activación de la coagulación es fundamental. Es imprescindible su presencia para la activación del factor X y IX, por el complejo FT-VII, la activación del factor X, por los factores VIII y IX y la activación del factor II por los factores X y V. La presencia de aFL, reduce la cantidad de fosfolípidos disponibles para que se realicen las reacciones mencionadas, interfiriendo en el mecanismo de la coagulación. La PZ se une a la trombina promoviendo la unión de ésta a vesículas

fosfolipídicas, uniéndose además por sí misma a estas superficies en presencia de calcio. (De Perdomo, Forastiero, Martinuzzo, & Kordich, 2001)

Además se ha evaluado la relación entre la apolipoproteína E (APOE) y las dosis de warfarina. La captación de vitamina K en el hígado es mediada por la APOE y el isómero E4 es catabolizado dos veces más rápido que el E3. También se ha demostrado que los individuos portadores del alelo *APOE\*E4* poseen una mayor captación de lipoproteínas en el hígado y menores niveles de vitamina K circulante, por lo tanto estos pacientes necesitaran mayores dosis de warfarina para compensar el alto contenido de vitamina K en el hígado. (Kohnke, Sörlin, Göran, & Wadelius, 2005)

#### **2.4.5.3. Etnicidad**

Las diferencias étnicas como factor determinante en la dosis requerida de warfarina para un INR entre 2 y 3, están bien documentadas en la literatura, pero al parecer no son tenidas en cuenta lo suficientemente en la práctica clínica. El consenso de la guía de anticoagulación, relacionado con warfarina no menciona la influencia de la etnicidad en el mantenimiento de la dosis, la cual se estableció con estudios realizados sobre personas blancas.

La dosis diaria representativa promedio para Asiáticos es 3.4 mg, 5.1 mg para Blancos y 6.1 mg para negros. Así mismo las diferencias étnicas representan diferencias en las variantes alélicas de los proteínas VKORC1 -1639 (Blancos: 35-45%; Negros: 8-10%; Asiáticos: 90-95%) y CYP2C9\*3 (Blancos: 5-13%; Negros: 1-2%; Asiáticos: 2-5%), lo que deriva en diferencias en la dosis requerida. (Johnson, 2008)

#### **2.4.5.4. Algunas interacciones con fármacos y alimentos**

Con respecto a la interacción con otros fármacos, se evaluó con el paracetamol utilizando una base de datos post-mortem, en un período de 1 año. Se encontró que un 16% de los casos positivos (53 de 328), fue debido a dicha interacción y que el número de sangrados fatales fue 4.6 y 2.7 veces mayores comparado con la administración individual de paracetamol o warfarina respectivamente, por lo tanto la combinación de warfarina con este fármaco representa una asociación que puede amenazar la vida del paciente. (Launiainen, Sajantila, Rasanen, Vuori, & Ojanperä, 2010)

También se evaluó el efecto sobre el metabolismo de warfarina cuando se administra concomitantemente con carbamazepina, en pacientes caucásicos determinando la concentración plasmática de los isómeros R y S de warfarina así como de sus

metabolitos hidroxilados, por HPLC. Los pacientes co-tratados con carbamazepina presentaron concentraciones significativamente altas de la 10-hidroxiwarfarina, en comparación con los que no recibieron ninguna medicación concomitante (0.327 µg/mL vs 0.030 µg/mL,  $p=0.003$ ), lo que indica un claro aumento en el metabolismo de la warfarina, por lo que se requiere un monitoreo constante del paciente cuando se co-medica con carbamazepina, especialmente al comienzo del tratamiento y si se detiene su administración. (Herman et al., 2006)

Se ha utilizado la relación INR/Dosis para evaluar el efecto de las fluoropirimidinas perorales (capecitabina y doxifluridina), sobre la actividad anticoagulante de la warfarina, ajustando la dosis de la misma para mantener el INR en el rango de 1.7-2.7.

Para mantener el INR dentro del rango deseado la dosis de warfarina fue reducida a 5mg diarios en ausencia de fluoropirimidinas perorales y hasta 1.5 mg con la administración concomitante. En contraste con la elevada relación INR/Dosis (1.03-1.66), la cual fue continua durante toda la quimioterapia, se observó un valor bajo de la relación antes de la misma (0.5). Estos resultados claramente indican que la administración concomitante de doxifluridina o capecitabina con warfarina aumenta marcadamente la actividad de la última. (Nakajima et al., 2010)

De igual forma se ha reportado que un aumento en la ingesta de vitamina K está asociada con la disminución del INR, y viceversa. También se ha observado que en pacientes inestables en terapia de anticoagulación, la ingesta de vitamina K fue considerablemente menor que en pacientes estables, es decir la recomendación de consumir alimentos ricos en vitamina K, es pertinente cuando se desea incrementar la estabilidad de la anticoagulación. (Rombouts, Rosendaal, & Van der Meer, 2010; Cryder et al., 2011)

Otra recomendación para los pacientes que están empezando la terapia con warfarina es reemplazar los medicamentos que potencialmente interacción con ella, por alternativos (por ejemplo rabeprazol en lugar de omeprazol). Igualmente se recomienda monitoreos más frecuentes del INR, durante las dos semanas del comienzo o discontinuación del tratamiento concomitante con otros medicamentos. Finalmente se recomienda el uso de métodos más rigurosos para examinar las interacciones de la warfarina en pacientes. (Holbrook et al., 2005)

#### **2.4.6. Reacciones adversas**

La principal es la hemorragia, en forma visible u oculta. Cuando el tiempo de protrombina es normal, la hemorragia puede deberse a un traumatismo o ulceración previa, y suele ser más abundante. Cuando el tiempo de protrombina está descendido, aparecen hemorragias espontáneas en localizaciones muy dispares: gastrointestinales, renales, mucosas, cerebrales, uterinas, hepáticas y pulmonares. Estas hemorragias guardan relación con la concentración de anticoagulante; precisamente, la dificultad de mantener un nivel constante debido a los múltiples factores individuales (fisiológicos, dietéticos y yatrógenos) dificulta esta forma de terapéutica y es causante de un considerable índice de morbilidad, de ahí que, por cómoda que aparentemente resulte, la decisión de instaurar la terapéutica con anticoagulantes orales exige una previsión y una planificación en la que se tengan en cuenta todas las circunstancias personales de cada paciente, incluida la necesidad de que éste efectúe un buen cumplimiento, y el buen seguimiento por parte del médico. (Flórez et al., 1997)

#### **2.4.7. Dosificación y control**

La warfarina se administra en una dosis inicial de 6-8 mg/día en una sola dosis diaria durante varios días, hasta alcanzar el intervalo de unidades INR. Después se administra la dosis diaria de mantenimiento.

El tratamiento anticoagulante con administración peroral, precisa un cuidadoso control analítico ya que hay una gran variabilidad individual en la respuesta, no predecible por peso, edad, etc., y porque es muy estrecho el margen entre dosis ineficaz, adecuada y excesiva (bajo índice terapéutico). El test más comúnmente empleado es el tiempo de protrombina. Su oscilación responde a los cambios en los factores II, VII y X en proporción a sus semividas respectivas. El reactivo utilizado para su dosificación es una tromboplastina. Hay una gran variabilidad entre las que existen en el mercado, en función de su tejido de origen y del método de preparación, por lo que los resultados en un mismo paciente obtenidos con diferentes tromboplastinas no siempre son comparables y pueden originar confusión. Esto ha hecho imprescindible conocer la sensibilidad del reactivo a utilizar (ISI) en relación con una tromboplastina de referencia internacional estándar de la OMS (ISI: 1), para expresar los resultados en forma de razón normalizada internacional (INR): es el resultado teórico que se habría obtenido de haber valorado la muestra con la tromboplastina de referencia.

El INR es la forma correcta de expresar los resultados del tiempo de protrombina en pacientes sometidos a terapéutica anticoagulante de forma estable. En las primeras semanas de tratamiento es menos valorable, sobre todo si no se usan tromboplastinas con sensibilidad alta (ISI < 1,2). (Flórez et al., 1997)

#### **2.4.7.1. Evaluación de satisfacción, adherencia al tratamiento, monitoreo y ajuste de dosis**

Sin tener en cuenta el modelo de cuidado, hay un número de características de la anticoagulación que pueden potencialmente inducir insatisfacción y reducir la calidad de vida. Entre estas características esta la necesidad de periódicas pruebas de sangre, incomodidades debidas al sistema médico, limitaciones en el estilo de vida (ej., restricciones en la dieta y algunas actividades) y posibles preocupaciones referentes al sangrado y moretones. La anticoagulación puede también tener un número de efectos positivos; por ejemplo, la tranquilidad de un tratamiento efectivo y el contacto con un grupo de apoyo eficiente.

Se han desarrollado métodos para medir el grado de satisfacción de los pacientes sometidos a anticoagulación; uno de ellos es el DASS (Duke Anticoagulation Satisfaction Scale). La insatisfacción con la anticoagulación conduce a una disminución a la adherencia, pobre control del INR y pobres avances clínicos, el DASS ayuda a identificar las razones de insatisfacción y satisfacción ayudando a desarrollar intervenciones que favorezcan tanto al tratamiento como a la calidad de vida del paciente. (Samsa et al., 2004)

Los farmacéuticos y demás personal clínico fueron entrevistados acerca de las necesidades específicas, dificultades y mejoras referentes al uso y control de la warfarina para examinar su impacto en el control del INR, la frecuencia de su uso y las experiencias del personal que lo puso a prueba. Se encontró que esta herramienta es útil para promover TTR óptimos, disminuir el INR, racionalizar los procesos y aumentar la confianza en el manejo de la warfarina por parte del personal del área de la salud. (Papaioannou et al., 2010)

La descentralización de los análisis y el interés por parte de los pacientes en su autocontrol ha ayudado al personal de la salud a hacer frente a las dificultades que se puedan presentar. Los centros de salud y los pacientes pueden economizar por consiguiente, tanto desde el punto de vista de dinero como de tiempos de análisis que

redundaran en menos costos. Es importante fusionar el aprovechamiento de estos dispositivos con el monitoreo constante, el soporte a pacientes en caso de pobre anticoagulación, ocurrencia de efectos colaterales y el manejo de procedimientos invasivos. (Bianchi, Tripodi, Chantarangkul, & Mannucci, 2001)

Con respecto al establecimiento de las dosis de warfarina se llevó a cabo un estudio retrospectivo con pacientes consecutivos que presentaron cuadros trombóticos entre 2003 y 2006 en un hospital de Estados Unidos especializado en cuidado cardiovascular, neurológico y en trauma. El personal de la unidad de trombosis usualmente decidió que la dosis posoperatoria de warfarina para cirugías de corazón abierto, era 2.5 mg, para otros tipos de cirugías fue 5mg. Llama la atención que no se siguió un protocolo establecido. La mayoría de los pacientes tratados con warfarina se sometieron a cirugía. Se observó que la alterada sensibilidad a la warfarina ocurre en una tercera parte de los pacientes después de la cirugía y que cambios en la medicación concomitante puede conllevar a este efecto. (Schulman, El Bouazzaoui, Eikelboom, & Zondag, 2008)

De igual forma se ha informado que la dosis media de warfarina disminuye predeciblemente con la edad y es menor en mujeres que en hombres. Se ha reportado que las dosis promedio de mantenimiento para hombres jóvenes es de 6.4 mg/día y para mujeres mayores de 80 años es solo 3.1 mg/día. Estas observaciones sugieren que la iniciación y mantenimiento de la dosis debería ser modificada para reducir el riesgo de una inadecuada terapia en pacientes jóvenes y una excesiva anticoagulación en pacientes mayores. (Garcia, Regan, Crowther, Hughes, & Hylek, 2005)

Uday P. Kulkarni et al., (2008) evaluaron la correlación entre la concentración total en plasma de warfarina, 7-hidroxiwarfarina y el INR en dosis semanales de warfarina, en pacientes con anticoagulación a largo plazo.

Los pacientes involucrados en el estudio (18 hombres y 7 mujeres), tenían edades entre los 22 y 56 años, la indicación para la terapia con warfarina fue reemplazo de válvula mitral, trombosis venosa profunda, reemplazo de válvula aortica, reemplazo de válvula mitral y aortica, fibrilación auricular, trombosis del seno venoso y embolia arterial. Además los pacientes estaban tomando concomitantemente furosemida, diltiazem, digoxina, aspirina, salbutamol, enalapril, pentoxifilina, complejo B, amlodipino, fenitoína, penicilina benzatínica, ácido fólico, espironolactona y clorpromazina. La dosis media semanal de warfarina fue  $34.58 \pm 14.76$  (SD).

De acuerdo con la evidencia disponible, en el año 2007 la FDA le exigió al laboratorio farmacéutico que en el inserto del producto se incluyera la recomendación a los prescriptores para que tuvieran en cuenta los genotipos CYP2C9 y VKORC1, aunque no se mencionó cómo utilizar la información genética en el estimativo de las dosis. Finalmente, mediante un estudio conducido en usuarios de warfarina de diferentes grupos étnicos, recientemente se validó el algoritmo de dosificación del fármaco basado en variables demográficas, clínicas y farmacogenéticas; de hecho, ya se ha creado el sitio web ([www.warfarindosing.org](http://www.warfarindosing.org)) para ayudar a los clínicos en el cálculo de las dosis del fármaco. (Isaza et al., 2009)

Otro factor a considerar son los pacientes que tienen un pobre entendimiento de las indicaciones y de los potenciales efectos adversos, tendrán mayor tendencia a la no adherencia al tratamiento que los que reciben educación al respecto, por ello se les debe estimular en:

- Reportar cualquier señal de sangrado durante el uso de warfarina.
- Tener frecuentes controles del INR, cuando empiecen o detengan la medicación concomitante, tanto prescrita como complementaria.
- Mantener un historial escrito de los resultados del INR.
- Mantener una sola marca de medicamento, ya que los estudios de bioequivalencia no son claros.

No se recomienda el auto monitoreo o auto ajuste de la dosis. (Campbell, Roberts, Eaton, Coghlan, & Gallus, 2001)

En contraposición se ha reportado que el auto manejo de la terapia anticoagulante oral es tan viable como el manejo realizado por un especialista, además es bien aceptado y apreciado por las personas que lo practican, por lo tanto puede ser considerado como una estrategia efectiva y agradable en tratamientos a largo plazo. Sin embargo, aunque los pacientes muestran habilidad para el auto manejo de la terapia, es necesario, que cuenten con un soporte adecuado, por lo tanto, sigue en marcha la educación a este respecto, pero en caso de presentarse irregularidades como sangrado se debe recurrir a los especialistas clínicos quienes tienen mayor experiencia en estos casos. (Cromheecke et al., 2000)

#### **2.4.7.2. Papel del personal de la salud**

Como se ha dicho el objetivo del manejo de la anticoagulación es maximizar la eficacia mientras que se minimiza el riesgo hemorrágico. La anticoagulación oral con warfarina es difícil de regular debido a su estrecho índice terapéutico. Se han obtenido mejores respuestas en los pacientes cuando se maneja la anticoagulación por un servicio centralizado, antes que por los procedimientos habituales.

Los componentes esenciales del servicio de anticoagulación interdisciplinario incluyen el establecimiento de una misión clara, directrices consistentes, procedimientos y políticas basadas en la evidencia, la contratación de personal calificado y la obtención de la historia clínica del paciente. Los miembros del grupo deben aprender a identificar las posibles interacciones fármaco-fármaco o fármaco-alimento, el manejo de la documentación computarizada y el seguimiento de la hemorragia así como de las complicaciones de la coagulación, teniendo en cuenta que la clave principal del éxito es la comunicación. (Grasso-Correnti, Goldszer, & Goldhaber, 2003)

La combinación de cortos períodos de hospitalización y el incremento en el uso de warfarina ha conllevado a un estrés en la comunidad con respecto a los servicios de salud y el cuidado de los pacientes anticoagulados después de ser dados de alta. A menudo se presenta, pobre planeación en lo referente al control del paciente dado de alta, insuficiente comunicación entre el hospital y el mismo, aumento en los tiempos de monitoreo del INR o aumento en la dosis de warfarina muy rápido en pacientes recién iniciados con la terapia. De igual forma las dificultades en la comunicación y la malinterpretación de la información conlleva a errores en la medicación. También las pruebas de laboratorio representan frecuentemente una incomodidad y pueden ser no realizadas por pacientes que dependen de otras para su movilización, debido a sus limitaciones físicas. Estas dificultades son comunes además en pacientes que viven en áreas rurales. Por todo esto el papel del farmacéutico es importante en el manejo del paciente anticoagulado. Se ha demostrado que el uso de herramientas como el POC-INR (point - of care international normalized ratio) ejecutada por un farmacéutico bien entrenado puede mejorar el manejo de la warfarina. (Stafford, Peterson, Bereznicki, & Jackson, 2011)

### 2.4.8. Antídoto

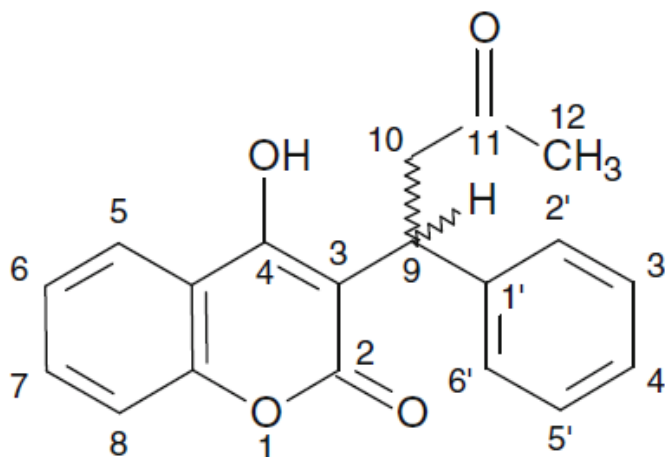
Se utiliza la vitamina K1 por vía SC o IV. Su efecto comienza de 3 a 4 horas y el tiempo de protrombina se normaliza aproximadamente a las 8 horas. La suspensión de los anticoagulantes perorales no produce una reducción inmediata de sus efectos sino que tarda un espacio de tiempo bastante largo, debido tanto a sus características cinéticas, como al tiempo necesario para que vuelvan a sintetizarse los factores dependientes de la vitamina K. (Flórez et al., 1997)

### 2.5. Propiedades fisicoquímicas de la warfarina

**Nombre químico (IUPAC):** (RS)-4-hidroxi-3-(3-oxo-1-fenilbutil)-cumarina.

**Sinónimo:** 3-( $\alpha$ -fenil- $\beta$ -acetiletil)-4-hidroxycumarina.

**Fórmula molecular:** C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>.



**Figura 2.** Estructura química de la warfarina

**Peso molecular:** 308.34 g/mol.

**Punto de fusión:** 161 °C.

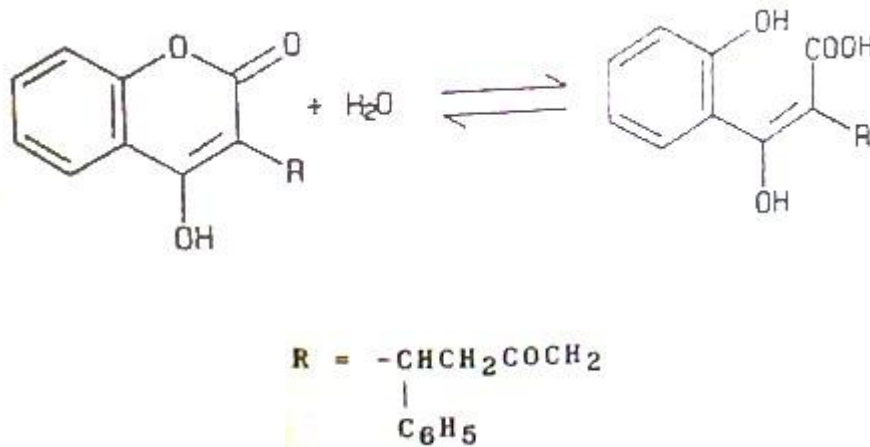
**Solubilidad:** soluble en acetona y dioxano, moderadamente soluble en metanol y etanol y prácticamente insoluble en benceno y ciclohexano. La solubilidad en HCl 0.1 N es 4.4 mg/L a temperatura ambiente y 7.5 mg/L a 37 °C. La sal sódica es libremente soluble en agua.

**pKa:** 5.05 ± 0.1 a temperatura ambiente. (Porter, 2010; Connors, Amidon, & Stella, 1986)

## 2.6. Estabilidad de la warfarina

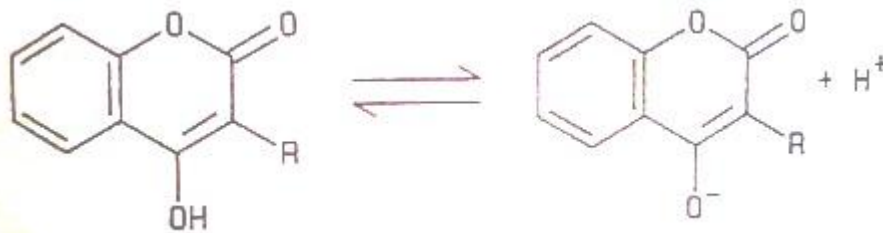
La warfarina es una lactona, un enol y una cetona. La ionización del enol (pKa: 5.0), parece estabilizar la lactona con respecto a la hidrólisis. La precipitación de la warfarina libre es un posible problema de formulación debido a su muy baja solubilidad en agua (4mg/L) pero se puede prevenir controlando el pH, de tal manera que la concentración de warfarina libre no exceda el límite de solubilidad.

La warfarina es una lactona y la reacción esperada en solución acuosa es la hidrólisis, para obtener el correspondiente ácido cis-cumarínico, como se muestra en la ecuación:



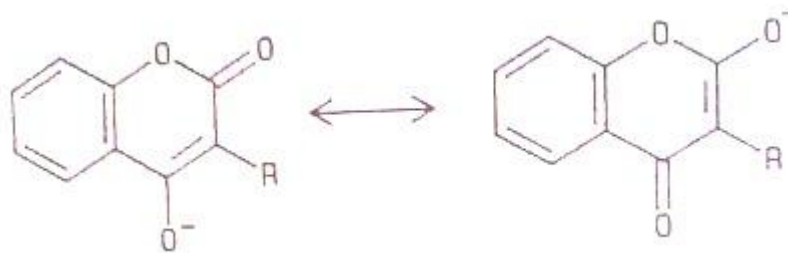
**Figura 3.** Hidrólisis de la warfarina

En las cumarinas simples ocurre esta reacción fácilmente, sin embargo, la warfarina también posee un grupo enol, el cual sufre una disociación ácida con un pKa aproximado de 5, como se muestra en la ecuación:



**Figura 4.** Disociación ácida de la warfarina

La carga negativa en el anión enolato, esta deslocalizada, como se muestra en la reacción:



**Figura 5.** Deslocalización de la carga después de la disociación ácida de la warfarina

Por lo tanto, se espera que el grupo lactona de la warfarina ionizada sea menos susceptible al ataque por agua o hidróxido, debido a la repulsión de las cargas.

La warfarina tiene un grupo cetona en la cadena lateral y puede, por lo tanto, sufrir reacciones típicas del grupo carbonilo. Puede también formar sales del grupo enol ácido.

Bajo condiciones rigurosas (pH 9, 150 °C, 48 h), puede sufrir hidrólisis y descarboxilación obteniéndose la 3-(o-hidroxifenil)-5-fenil-2-ciclohexen-1-ona.

Las soluciones de warfarina sódica a 25 mg/mL preparadas en agua estéril, desarrollan un precipitado después de varios días, posiblemente por la formación de la forma ácida que es muy poco soluble, debido al cambio de pH de las soluciones no bufferizadas.

La forma ionizada de la warfarina es adsorbida en bolsas para infusión de polivinil cloruro.

Por todo lo anterior se concluye que el principal problema práctico es la precipitación de la warfarina libre a partir de soluciones acuosas de su sal. Este problema se previene controlando el pH y considerando la solubilidad de la warfarina. (Connors et al., 1986)

## 2.7. Presentaciones disponibles en Colombia

- Warfarina sódica, tableta con 5 mg.
- Warfarina sódica caltrato, tableta cubierta con película con 2.5 mg.
- Warfarina sódica caltrato, tableta con 5.0 mg. (INVIMA, 2012)

Se puede observar que no se comercializa una forma farmacéutica líquida, por lo que la transformación de la tableta a suspensión, puede brindar una buena alternativa para uso hospitalario.

## **Capítulo III. Materiales y métodos**

### **3.1. Localización del estudio**

La validación de la metodología, las corridas cromatográficas del estudio de estabilidad y el almacenamiento de las muestras de estabilidad a 5 °C se llevaron a cabo en el laboratorio de Investigaciones en Análisis Instrumental del departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia. Las muestras de estabilidad a 30 y 40 °C se almacenaron en los cuartos de estabilidad del laboratorio de Estudios de Estabilidad del departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia.

### **3.2. Estandarización del método**

#### **3.2.1. Condiciones cromatográficas**

Debido a que la USP 35 no reporta un método para la valoración de warfarina sódica en suspensión, se desarrolló y validó la metodología para este producto.

Se siguió las condiciones cromatográficas sugeridas por la USP 35 para la cuantificación de warfarina sódica tabletas: longitud de onda 280 nm, columna L7 de 25 cm x 4.6 mm, flujo 1.4 mL/min, volumen de inyección 20 µL, fase móvil compuesta por metanol: agua: ácido acético glacial (68:32:1).

#### **3.2.2. Soluciones empleadas en la preparación de estándares y muestras**

##### **3.2.2.1. Hidróxido de sodio 1.0 N**

Se pesó aproximadamente 28.0 gramos de NaOH G.R. y se disolvió en 600 mL de agua destilada. Se completó volumen a 700 mL con agua destilada.

##### **3.2.2.2. Hidróxido de sodio 0.2 N**

Se diluyó 600 mL de solución de NaOH 1.0 N a 3 litros con agua destilada.

### **3.2.2.3. Hidróxido de sodio 0.1 N**

Se diluyó 500 mL de solución de NaOH 0.2 N a 1 litro con agua destilada.

### **3.2.2.4. Buffer pH 7.4**

Se pesó aproximadamente 81.6 gramos de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  G.R., se disolvió en 3 litros de agua destilada. Se adicionó 2.346 litros de solución de NaOH 0.2 N y se completó volumen a 12 litros con agua destilada. Se ajustó pH a 7.35 con solución de NaOH 1.0 N.

### **3.2.2.5. Mezcla diluyente**

Se mezcló 12 litros de buffer pH 7.4 con 2.118 litros de acetonitrilo.

### **3.2.2.6. Fosfato monobásico de potasio 0.2 M**

Se pesó aproximadamente 2.7 gramos de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  G.R., se disolvió en 90 mL de agua destilada y se completó a 100 mL con agua destilada.

### **3.2.2.7. Ácido clorhídrico 0.1 N**

Se diluyó aproximadamente 1.7 mL de HCl fumante a 200 mL con agua destilada.

### **3.2.2.8. Peróxido de hidrógeno 2.5 %**

Se diluyó aproximadamente 16.7 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30 % a 200 mL con agua destilada.

### **3.2.3. Sistema de idoneidad**

Antes de llevar a cabo la validación de la metodología analítica se verificó la idoneidad del sistema cromatográfico realizando 5 inyecciones del estándar de warfarina USP RS (antes de ser pesado se secó al vacío por 4 horas sobre Pentóxido de difósforo), a una concentración aproximada de 0.1 mg/mL y con base en los cromatogramas obtenidos, se determinó los siguientes parámetros:

- Repetibilidad
- Asimetría
- Platos teóricos
- Factor de capacidad

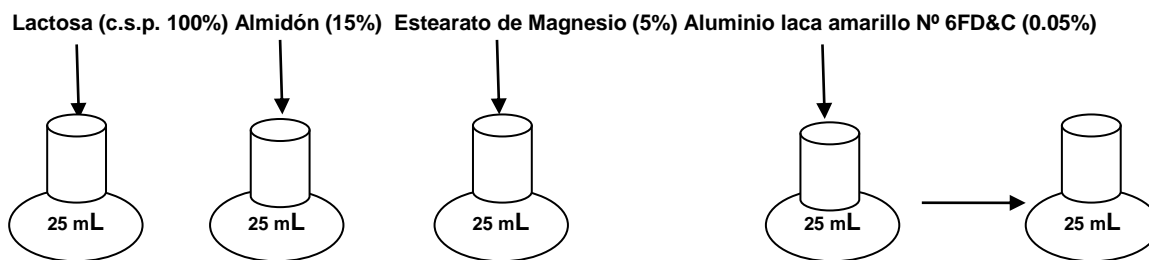
### **3.3. Validación de la metodología**

Luego de la verificación de la idoneidad del sistema se procedió a la validación de los siguientes parámetros:

#### **3.3.1. Selectividad**

##### **3.3.1.1. Selectividad frente a los excipientes**

Para determinar la selectividad frente a los excipientes, éstos se analizaron uno a uno evaluándolos en el doble de la concentración a la que normalmente se encuentran en la suspensión. Con base en la variación de peso de las tabletas, se transfirió el peso correspondiente al porcentaje de cada excipiente en la formulación, a balones aforados de 25 mL. Al excipiente Aluminio laca amarillo N° 6FD&C, se le realizó doble dilución debido a su baja concentración. De igual forma se preparó una solución final con todos los excipientes presentes en la tableta, disueltos en Cloruro de sodio al 0.9%, otra, disueltos en Dextrosa al 5% y otra en una mezcla 1:1 de los dos vehículos mencionados. (Ver figura 6)

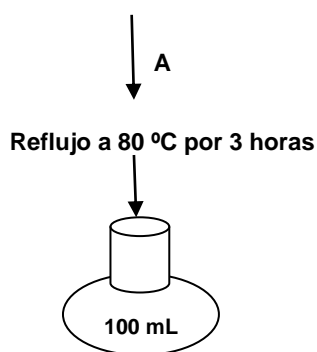


**Figura 6.** Esquema de selectividad frente a los excipientes

### 3.3.1.2. Selectividad frente a los compuestos de degradación

Se realizó la degradación forzada de la warfarina sódica y los excipientes en agua, medio ácido y medio básico, de igual forma se realizó una oxidación, sometiendo las muestras a reflujo a 80°C por 3 horas y media hora en el caso de la oxidación. También se expuso las muestras a fotólisis tanto a luz directa del sol como a 244 y 366 nm, por 12 horas. Como medios de degradación se utilizó HCl 0.1 N, NaOH 0.1 N y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2.5%. Antes de aforar las muestras con mezcla diluyente, se neutralizó el pH. (Ver figura 7). **NOTA:** los pesos que aparecen en la figura son aproximados.

10.0 mg Warfarina sódica (1802.0 mg Lactosa; 330.7 mg Almidón; 110.2 mg E. de Magnesio; 27.6 mg Amarillo N° 6 (en 25 mL y luego se transfiere 1 mL); 10 mL de Dextrosa al 5% y 10 mL de NaCl 0.9%)



A= Hidrólisis básica: 30 mL de NaOH 0.1 N; Hidrólisis ácida: 30 mL de HCl 0.1 N; Efecto del calor: 50 mL de Agua; Oxidación: 50mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2.5%; Fotólisis: 50 mL de Diluyente.

**Figura 7.** Esquema de selectividad frente a los compuestos de degradación

### 3.3.2. Linealidad

#### 3.3.2.1. Linealidad del sistema

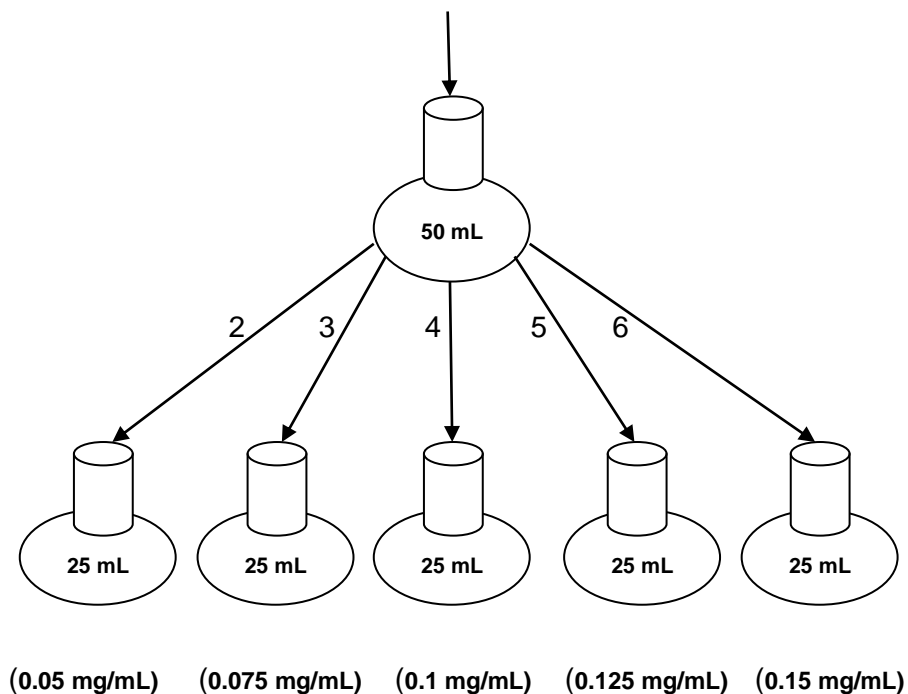
La linealidad del sistema se determinó analizando el estándar de warfarina sódica en el siguiente rango de concentraciones: 0.05, 0.075, 0.1, 0.125 y 0.15 mg/mL.

#### 3.3.2.2. Linealidad del método

La linealidad del método se determinó analizando la matriz de la suspensión enriquecida con el estándar de warfarina sódica en el siguiente rango de concentraciones: 0.05, 0.075, 0.1, 0.125 y 0.15 mg/mL.

Tanto para la linealidad del sistema como para la del método se trabajó con tres replicas para cada punto de la curva de calibración. (Ver figura 8). **NOTA:** los excipientes entre paréntesis solo aplican a la linealidad del método y son aproximados.

31.3 mg Warfarina sódica (1070.3 mg Lactosa; 206.7 mg Almidón; 68.9 mg E. de Magnesio; 17.2 mg Amarillo N° 6 (en 25 mL y luego se transfiere 1 mL); 10 mL de Dextrosa al 5% y 10 mL de NaCl 0.9%)



**Figura 8.** Esquema de linealidad (sistema y método)

### **3.3.3. Precisión**

#### **3.3.3.1. Repetibilidad**

La repetibilidad se evaluó tanto para el sistema como para el método realizando seis determinaciones de la solución de concentración 0.1 mg/mL.

#### **3.3.3.2. Precisión intermedia**

Se evaluó entre días y entre analistas. Se realizó determinaciones en dos días diferentes, por dos analistas y valorando tres replicas por día. La muestra se preparó al triturar 30 tabletas (previa determinación de la variación de peso), luego se pesó aproximadamente 1100 mg y se llevó a un balón aforado de 50 mL, se adicionó 30 mL del vehículo (3 muestras en dextrosa al 5% y tres en NaCl al 0.9% por analista), se agitó vigorosamente hasta obtener una suspensión homogénea, se completó volumen con el vehículo seleccionado y se agitó. Se transfirió una alícuota de 2mL a un balón aforado de 10 mL, se adicionó 5 mL de mezcla diluyente, se sonicó por 10 minutos, se agitó vigorosamente por 1 minuto y se aforó con solución diluyente. La concentración obtenida fue aproximadamente 0.1 mg/mL.

#### **3.3.4. Exactitud**

Se determinó la exactitud de la metodología para tres niveles de concentración: 75, 100 y 125 %. Para ello se utilizó las muestras de la linealidad.

#### **3.3.4. Estándares y reactivos**

- Estándar USP de warfarina RS; lote: I1G072; concentración en base as-is: 100%.
- Estándar secundario de warfarina sódica; lote: WS/OL/10/02; concentración en base as-is: 99.45%.
- Agua destilada.
- Metanol calidad HPLC; lote: DD910; marca: Honeywell.
- Acetonitrilo calidad HPLC; lote: DD886; marca: Honeywell.
- Ácido acético glacial; lote: 0000293996; marca: Panreac.
- Ácido clorhídrico fumante; lote: 737 K01482117; marca: Merck.
- Peróxido de hidrógeno al 30%; lote: 8H705288H; marca: Carlo Erba.

- Pentóxido de difósforo grado reactivo; lote: 546 1751670; marca: Merck.
- Hidróxido de sodio grado reactivo; lote: 1547; marca: EK CHEM.
- Fosfato monobásico de potasio grado reactivo; lote: 7100 L49D07; marca: Mallinckrodt.
- Dextrosa al 5% estéril; lote: SX 11IA2; marca: Baxter.
- Cloruro de sodio al 0.9% estéril; lote: SX 12BQ7; marca: Baxter.
- Lactosa; lote: 7506931; marca: Merck.
- Almidón; lote: 5297614; marca: Merck.
- Estearato de magnesio; lote: 06103484; marca: Silicar.
- Aluminio laca Amarillo N° 6FD&C; lote: AT5151; marca: Sensient Colors.

### **3.3.5. Materiales y equipos**

#### **3.3.5.1. Materiales**

- Columna cromatográfica marca Phenomenex luna C18 (250 x 4.6) mm, 5µm; serie: 360170-8.
- Material de vidrio (balones aforados, pipetas aforadas y graduadas, buretas, probetas, erlenmeyer, beaker, embudos, frascos transparentes y ámbar de 30 mL, viales ámbar, viales transparentes para HPLC).
- Tapas rosca plásticas.
- Jeringas desechables.
- Filtros para muestras 0.45 µm.
- Membrana de 0.45 µm y 0.22 µm para solventes.
- Mortero de porcelana con pistilo.
- Soporte universal.
- Pinzas para soporte universal.

#### **3.3.5.2. Equipos**

- Cromatógrafo Agilent technologies 1200. (Desgasificador, serie: JP62357603; modelo: G1322A. Bomba, serie: DE62959955; modelo: G1311A. Automuestreador, serie: DEABE00746; modelo: G1329B. Termostato, serie:

DE63061888; modelo: G1316A. Detector, serie: DE63057980; modelo: G1315B. Interfase, serie: DE60556476; modelo: G1328B).

- Balanza analítica; serie: 8332050115; marca: PIONEER; modelo: OHAUS.
- pH metro; serie: 05-3579; marca: Beckman; modelo: 50Φ.
- pH metro; serie: 036011; marca: CRISON; modelo: BASIC 20+.
- Ultrasonido; serie: 003278124; marca: Elma; modelo: Ultrasonic LC30H.
- Termohigrómetro; serie: 445815; marca: EXTECH Instruments; modelo: Humidity Alert II.
- Nevera; serie: E-081099508; marca: HACEB; modelo: SE MF 410L BL.
- Estufa de vacío; serie: 2010022303; marca: LabTech; modelo: LVO-2040.
- Cuartos de estabilidad.

### 3.4. Estudios de estabilidad

- Para los estudios de estabilidad se usaron los siguientes vehículos:

**Vehículo 1:** Solución de Cloruro de sodio al 0.9%.

**Vehículo 2:** Solución de Dextrosa al 5%.

- Concentración de la suspensión: 5 mg/10mL.
- Volumen de la suspensión: 30 mL.
- Preparación de la suspensión: se trituraron 30 tabletas hasta obtener un polvo fino, se pesó aproximadamente el equivalente a 25 mg de warfarina sódica (previa determinación de la variación de peso), se llevó a un balón aforado de 50 mL, se adicionó 30 mL del vehículo seleccionado, se agitó vigorosamente hasta obtener una suspensión homogénea, se completó a volumen con el vehículo seleccionado y se agitó.
- Temperaturas a las que se sometió las muestras: 5, 30 y 40°C.
- Se leyó el pH de cada una de las muestras a todos los tiempos de muestreo.
- Condiciones de luz: ausencia (frasco ámbar) y presencia (frasco transparente).
- Tiempo de exposición: 336 horas, con observaciones a las 0, 12, 24, 48, 72, 96 y 336 horas.

- Envase: recipiente de vidrio ámbar y transparente con capacidad de 30 mL y tapa rosca plástica.

La estabilidad física se determinó por observaciones como cambio de color, olor y aparición perceptible de precipitados.

La estabilidad química se determinó teniendo en cuenta el porcentaje de degradación, el cual no superó el 5%, al final del estudio y bajo las condiciones de luz y temperatura indicadas. También se leyó el pH de cada muestra en todos los tiempos de muestreo. Las condiciones del estudio se escogieron teniendo en cuenta que Colombia se encuentra en la zona climática 4 según la OMS.

### **3.5. Elaboración del protocolo de preparación de la solución extemporánea**

Una vez definido en cual vehículo y bajo qué condiciones de pH y temperatura es más estable la mezcla, se procedió a elaborar un protocolo para su preparación y se estableció las recomendaciones para su uso y almacenamiento.

## Capítulo IV. Resultados y Discusión

### 4.1. Estandarización del método

#### 4.1.1. Idoneidad del sistema

INYECCIÓN	TIEMPO DE RETENCIÓN	ÁREA	K'	PLATOS TEÓRICOS	ASIMETRÍA
1	7.584	2785.732	3.432	7002	0.840
2	7.577	2785.247	3.428	6775	0.840
3	7.584	2783.670	3.432	7002	0.840
4	7.565	2783.641	3.421	6967	0.830
5	7.573	2784.765	3.426	6768	0.830
<b>Promedio</b>	7.577	2784.611	3.428	6903	0.836
<b>SD</b>	0.00802	0.937	0.00469	120.734	0.00548
<b>CV</b>	<b>0.106</b>	<b>0.0336</b>	<b>0.137</b>	<b>1.749</b>	<b>0.655</b>

**Tabla 1.** Datos de la idoneidad del sistema

Los resultados observados en los cromatogramas para el sistema de idoneidad, con respecto a repetibilidad de áreas, factor de capacidad, platos teóricos y asimetría, cumplen con los parámetros establecidos por la USP 35. Por tal razón, el sistema cromatográfico es confiable y se puede utilizar para la validación de la metodología y el análisis del compuesto sometido al estudio.

### 4.2. Validación de la metodología

#### 4.2.1. Selectividad

##### 4.2.1.1. Frente a los compuestos de degradación

Tanto la warfarina sódica como los excipientes que hacen parte de la matriz de las tabletas fueron sometidos a degradación forzada. Se observó el efecto del calor, se realizó hidrólisis ácida y básica; también se llevó a cabo oxidación y fotólisis, esta última tanto por exposición a la luz directa del sol como a dos longitudes de onda (254 y 366 nm).

La bibliografía señala una deslocalización de la carga en el anillo cumarínico, lo que lo hace menos susceptible al ataque por agua o hidróxido. (Connors et al., 1986). Sin embargo, las reacciones son posibles a las condiciones de estudio, por lo que se decidió incluir la hidrólisis de manera confirmatoria.

#### **4.2.1.1.1. Hidrólisis ácida**

Los cromatogramas correspondientes a la hidrólisis ácida, presentan 3 señales; a los 7.6 minutos aproximadamente aparece la señal correspondiente a la warfarina sódica, a los 3.4 y 4.3 minutos aproximadamente aparecen las señales correspondientes posiblemente a la formación de los hemicetales cíclicos de la 4-hidroxicumarina y 2-hidroxicromona respectivamente. (Porter, 2010). (Ver anexo 1)

#### **4.2.1.1.2. Hidrólisis básica**

Los cromatogramas correspondientes a la hidrólisis básica, presentan 5 señales; a los 7.6 minutos aproximadamente aparece la señal correspondiente a la warfarina sódica, a los 3.3 y 3.8 minutos aproximadamente aparecen las señales correspondientes posiblemente a la formación del ácido hidroxycumarínico proveniente de la hidrólisis lactónica y la subsiguiente descarboxilación del mismo. La ciclación aldólica del último, forma posiblemente el compuesto correspondiente a la señal obtenida a los 9.4 minutos aproximadamente. A los 4.8 minutos aproximadamente se obtiene una señal que también se refleja en el blanco, posiblemente debida a una contaminación de la mezcla diluyente. (Porter, 2010). (Ver anexos 2 y 3)

#### **4.2.1.1.3. Efecto del calor**

Los cromatogramas correspondientes al efecto del calor, presentan 5 señales; a los 7.6 minutos aproximadamente aparece la señal correspondiente a la warfarina sódica, a los 3.3 y 4.3 minutos aproximadamente aparece en primer lugar la señal correspondiente posiblemente a la formación del ácido hidroxycumarínico proveniente de la hidrólisis lactónica y en segundo lugar la señal correspondiente posiblemente a la 2-hidroxicromona. La descarboxilación y ciclación aldólica del ácido hidroxycumarínico forma posiblemente, el compuesto correspondiente a la señal obtenida a los 9.4 minutos aproximadamente. A los 4.8 minutos aproximadamente se obtiene una señal que también se refleja en el blanco, posiblemente debida a una contaminación de la mezcla diluyente. (Porter, 2010). (Ver anexo 4)

#### **4.2.1.1.4. Oxidación**

Los cromatogramas correspondientes a la oxidación, presentan múltiples señales; a los 7.6 minutos aproximadamente aparece la señal correspondiente a la warfarina sódica, de 1.7 a 2.2

minutos aproximadamente aparece la señal correspondiente al blanco, de 2.4 a 6.2 y a los 9.3 minutos aproximadamente aparecen las señales correspondientes a los compuestos formados por la hidroxilación y posible formación de quinonas en las posiciones 4, 4', 6, 7 y 8 de la molécula de warfarina sódica. (Porter, 2010). (Ver anexo 5)

#### **4.2.1.1.5. Fotólisis luz solar directa, 254 y 366 nm**

Los cromatogramas correspondientes a las fotólisis solar, a 254 y 366 nm presentan 2 señales; a los 7.6 minutos aproximadamente aparece la señal correspondiente a la warfarina sódica y a los 4.8 minutos aproximadamente se obtiene una señal que también se refleja en el blanco, posiblemente debida a una contaminación de la mezcla diluyente. (Ver anexos 6, 7 y 8)

#### **4.2.1.2. Frente a los excipientes**

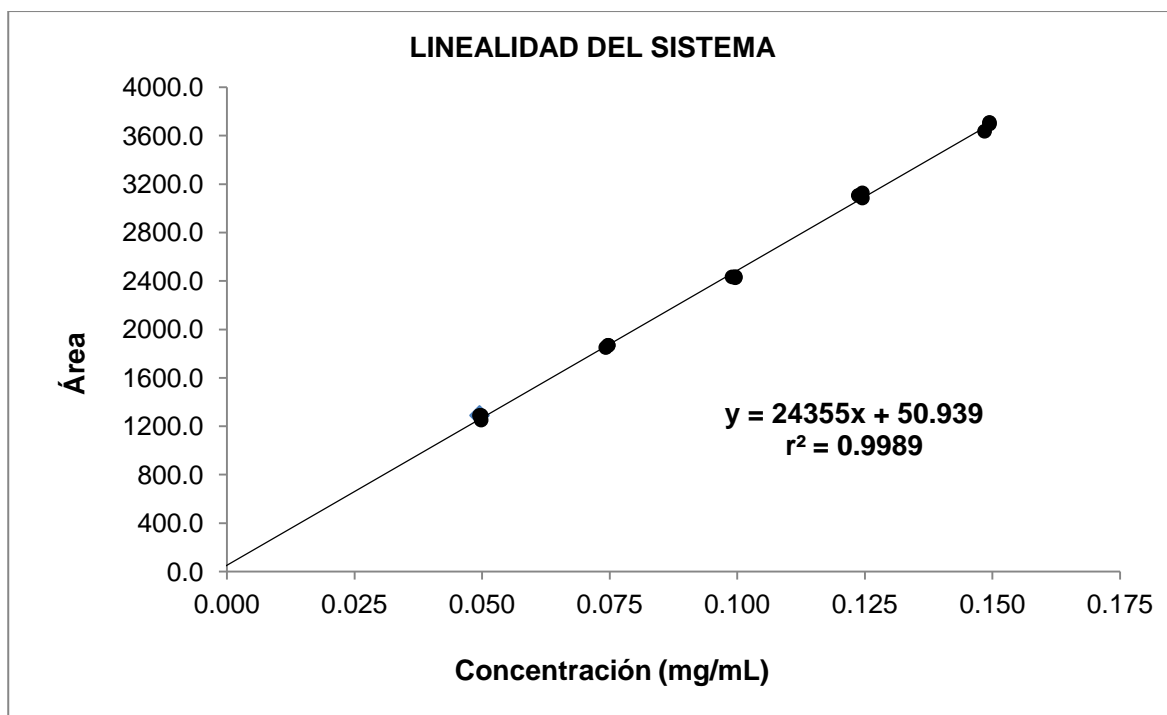
Los cromatogramas correspondientes a los excipientes no muestran señales debidas a ellos, por tal razón, no interfieren con la cuantificación del analito de interés. (Ver anexos 9, 10 y 11)

## 4.2.2. Linealidad

### 4.2.2.1. Linealidad del sistema

CONCENTRACIÓN TEÓRICA (mg/mL)	CONCENTRACIÓN REAL (mg/mL)	REPLICA	INYECCIÓN	ÁREA	PROMEDIO
0.05	0.0494863	1	1	1289.786990	1289.619815
			2	1289.452640	
	0.0498046	2	1	1290.205810	1290.006285
			2	1289.806760	
	0.0498046	3	1	1249.844850	1251.106140
			2	1252.367430	
0.075	0.0742295	1	1	1848.882570	1850.321840
			2	1851.761110	
	0.0747068	2	1	1868.913570	1868.869015
			2	1868.824460	
	0.0747068	3	1	1868.557250	1868.419675
			2	1868.282100	
0.1	0.0989726	1	1	2433.018070	2433.541995
			2	2434.065920	
	0.0996091	2	1	2435.554690	2435.584595
			2	2435.614500	
	0.0996091	3	1	2426.779050	2426.858155
			2	2426.937260	
0.125	0.123716	1	1	3105.159910	3106.735715
			2	3108.311520	
	0.124511	2	1	3128.186770	3127.719605
			2	3127.252440	
	0.124511	3	1	3086.913090	3085.034180
			2	3083.155270	
0.15	0.148459	1	1	3634.556150	3636.526610
			2	3638.497070	
	0.149414	2	1	3713.696040	3709.530515
			2	3705.364990	
	0.149414	3	1	3696.957520	3696.750855
			2	3696.544190	

**Tabla 2.** Datos de la linealidad del sistema



**Figura 9.** Curva de calibración de la linealidad del sistema

PARÁMETRO	HIPÓTESIS NULA	t observado	t tabulado	CONCEPTO
Intercepto (a)	$H_0: \alpha = 0$	0.12	2.16	Se acepta la hipótesis nula
Pendiente (b)	$H_0: \beta = 0$	6.14	2.16	Se rechaza la hipótesis nula
Correlación (r)	$H_0: r = 0$	108.65	2.16	Se rechaza la hipótesis nula

**Tabla 3.** Prueba t de Student para la linealidad del sistema

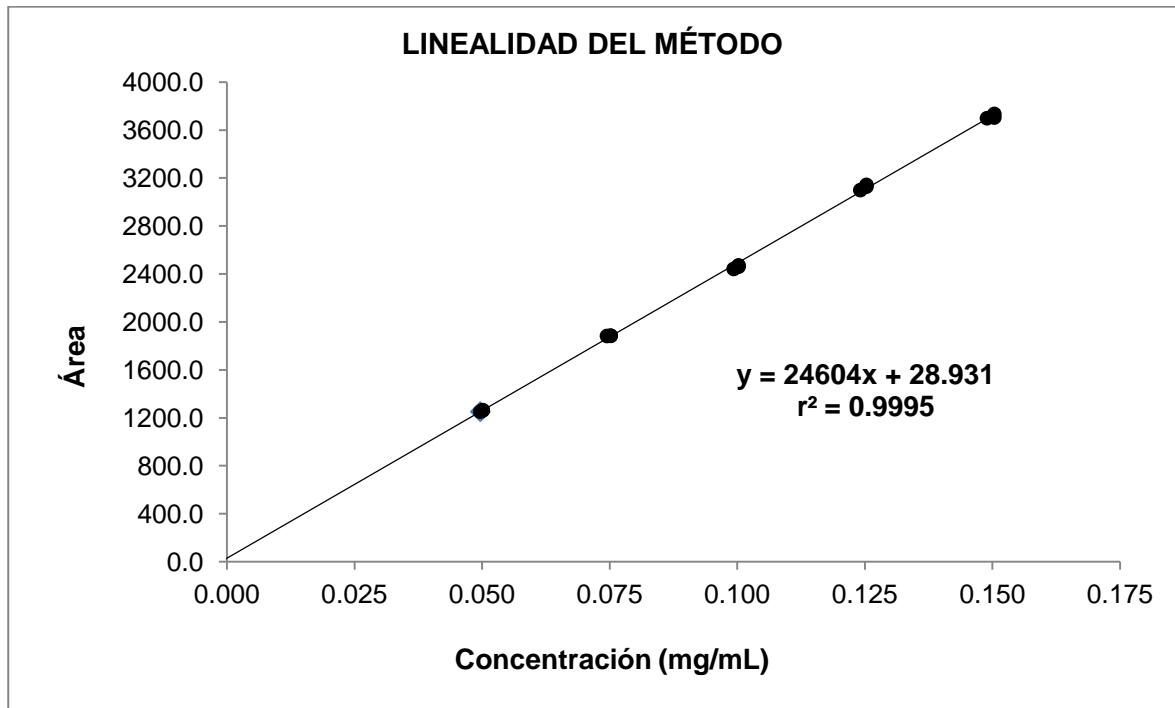
Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fexp	Ftab
Regresión	1	10989241.96	10989241.96	2.11E+04	4.67
Falta de ajuste	3	6.95E+03	2.32E+03	4.44	3.71
Error Puro	10	5.22E+03	5.22E+02		
Error Residual	13	12161.15			
Error total	14	11001403.11			

**Tabla 4.** Prueba F de Fisher y ANOVA para la linealidad del sistema

#### 4.2.2.2. Linealidad del método

CONCENTRACIÓN TEÓRICA (mg/mL)	CONCENTRACIÓN REAL (mg/mL)	REPLICA	INYECCIÓN	ÁREA	PROMEDIO
0.05	0.0496454	1	1	1251.125980	1251.557925
			2	1251.989870	
	0.0501228	2	1	1262.341670	1262.403015
			2	1262.464360	
	0.0501228	3	1	1263.707150	1263.840820
			2	1263.974490	
0.075	0.0744682	1	1	1883.964230	1882.876220
			2	1881.788210	
	0.0751842	2	1	1885.557860	1884.669310
			2	1883.780760	
	0.0751842	3	1	1885.294560	1884.739200
			2	1884.183840	
0.1	0.0992909	1	1	2442.557130	2441.987670
			2	2441.418210	
	0.1002456	2	1	2461.155030	2460.534910
			2	2459.914790	
	0.1002456	3	1	2471.287600	2471.484255
			2	2471.680910	
0.125	0.1241136	1	1	3097.810300	3099.499510
			2	3101.188720	
	0.1253070	2	1	3127.833740	3128.408935
			2	3128.984130	
	0.1253070	3	1	3178.557620	3142.758060
			2	3106.958500	
0.15	0.1489363	1	1	3698.793700	3699.100220
			2	3699.406740	
	0.1503684	2	1	3703.947020	3705.012450
			2	3706.077880	
	0.1503684	3	1	3734.124760	3734.720340
			2	3735.315920	

**Tabla 5.** Datos de la linealidad del método



**Figura 10.** Curva de calibración de la linealidad del método

PARÁMETRO	HIPÓTESIS NULA	t observado	t tabulado	CONCEPTO
Intercepto (a)	$H_0: \alpha = 0$	0.09	2.16	Se acepta la hipótesis nula
Pendiente (b)	$H_0: \beta = 0$	8.25	2.16	Se rechaza la hipótesis nula
Correlación (r)	$H_0: r = 0$	161.20	2.16	Se rechaza la hipótesis nula

**Tabla 6.** Prueba t de Student para la linealidad del método

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F exp	F tab
Regresión	1	11336294.99	11336294.99	50680.55	4.67
Falta de ajuste	3	3.12E+03	1.04E+03	4.64	3.71
Error puro	10	2.24E+03	2.24E+02		
Error residual	13	5353.51			
Error total	14	11341648.50			

**Tabla 7.** Prueba F de Fisher y ANOVA para la linealidad del método

Como se muestra en las tablas 3 y 6, la prueba t para un nivel de confianza del 95% y n-2 grados de libertad indica que estadísticamente hay proporcionalidad entre la concentración y la respuesta analítica para el rango comprendido entre 0.05 y 0.15 mg/mL. También indica que la pendiente es estadísticamente diferente a cero y el intercepto no es estadísticamente diferente a dicho valor. Todo lo anterior indica que los errores sistemáticos no afectan la linealidad ni del sistema ni del método y que esta es descrita por el modelo lineal propuesto.

Las tablas 4 y 7, donde se muestran las pruebas F y ANOVA, indican que estadísticamente no hay dispersión de los resultados entre réplicas para las distintas concentraciones.

Las figuras 9 y 10 representan las curvas de calibración para la linealidad del sistema y método respectivamente. En ellas se puede apreciar la proporcionalidad entre la concentración y la respuesta analítica para el rango comprendido entre 0.05 y 0.15 mg/mL, lo que se corrobora con los resultados expuestos en las tablas 3 y 6.

### 4.2.3. Precisión

#### 4.2.3.1 Repetibilidad del sistema

INYECCIÓN	ÁREA
1	2433.978
2	2438.239
3	2437.310
4	2436.810
5	2437.266
6	2441.357
<b>Promedio</b>	2437.493
<b>SD</b>	2.383
<b>CV</b>	0.0978

**Tabla 8.** Datos de la repetibilidad del sistema

#### 4.2.3.2. Repetibilidad del método

INYECCIÓN	ÁREA
1	2461.953
2	2464.119
3	2463.136
4	2459.888
5	2460.562
6	2459.844
<b>Promedio</b>	2461.584
<b>Desviación</b>	1.785
<b>CV</b>	0.0725

**Tabla 9.** Datos de la repetibilidad del método

Las tablas 8 y 9 muestran tanto para el sistema y el método coeficientes de variación inferiores al 2% (0.0978 y 0.0725), lo que indica que tanto el sistema como el método son precisos desde el punto de vista de la repetibilidad.

#### 4.2.3.3. Precisión intermedia

Concentración (mg/mL)	ANALISTA	ÁREA	
		DÍA 1	DÍA2
0.1	1	2537.467	2543.809
		2505.841	2559.296
		2527.642	2553.618
	2	2527.919	2548.255
		2577.098	2547.292
		2539.302	2547.812

**Tabla 10.** Datos de la precisión intermedia

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F exp	F tab
Analista	1	300.05620	300.05620	1.04	5.12
Día	1	599.41277	599.41277	2.08	5.12
Error	9	2599.66816	288.85202		
Total	11	3499.13713	318.10338		

**Tabla 11.** Prueba F de Fisher y ANOVA para la precisión intermedia

Como se muestra en la tabla 11, el análisis de varianza para los resultados de la precisión intermedia, no presenta diferencias estadísticamente significativas entre días o analistas, lo que indica que el método es preciso desde el punto de vista de reproducibilidad.

#### 4.2.4. Exactitud

Nivel de concentración	Número de muestra	% Adicionado	Concentración teórica	Área	Concentración hallada	% Recuperación
75%	1	0.075	0.07455	1882.9	0.07447	99.9
	2	0.075	0.07455	1884.7	0.07518	100.9
	3	0.075	0.07455	1884.7	0.07518	100.9
100%	1	0.1	0.09940	2442.0	0.09929	99.9
	2	0.1	0.09940	2460.5	0.10025	100.9
	3	0.1	0.09940	2471.5	0.10025	100.9
125%	1	0.125	0.12425	3099.5	0.12411	99.9
	2	0.125	0.12425	3128.4	0.12531	100.9
	3	0.125	0.12425	3142.8	0.12531	100.9

**Tabla 12.** Datos de la exactitud

<b>Promedio</b>	100.53
<b>Desviación estándar</b>	0.480
<b>Desviación estándar relativa</b>	0.478
<b>t exp</b>	3.351
<b>t tab</b>	2.306

**Tabla 13.** Prueba t de Student para la exactitud

<b>MUESTRA</b>	<b>% Recuperación 75</b>	<b>% Recuperación 100</b>	<b>% Recuperación 125</b>
1	99.9	99.9	99.9
2	100.9	100.9	100.9
3	100.9	100.9	100.9
<b>Media</b>	100.5	100.5	100.5
<b>SD</b>	0.555	0.555	0.555
<b>CV</b>	0.552	0.552	0.552
<b>n</b>	3	3	3
<b>Varianza</b>	0.308	0.308	0.308
<b>G cal</b>	0.3333		
<b>G tab</b>	0.8709		

**Tabla 14.** Prueba G de Cochran exactitud

La tabla 12 muestra que el porcentaje de recuperación fue superior al 95% e inferior al 105%, encontrándose dentro de la especificación de la USP 35 para la warfarina sódica. La prueba G de Cochran muestra que existe homogeneidad entre las varianzas para los diferentes niveles de concentración (ver tabla 13). Para la t de Student se puede apreciar que el valor calculado es mayor que el tabulado, se acepta entonces la hipótesis alternativa ( $H_1: t_{exp} > t_{tab}$ ) y se afirma que la probabilidad de obtener un valor t, con ocho grados de libertad, igual o mayor a 3.351 es aproximadamente 0.005, cuando el promedio es 100.53, es decir, no existe diferencia estadísticamente significativa entre los datos y el 100%. (Ver tabla 14).

Los resultados de la validación de la metodología por HPLC muestran que es selectiva, lineal, precisa y exacta, por lo tanto es confiable para ser utilizada en la determinación del activo warfarina sódica.

### 4.3. Estudios de estabilidad de la preparación extemporánea

Tiempo de Muestreo (Horas)	T ° C	Replica	Nº Muestra ((1)NaCl 0.9% y (2)Dextrosa 5%)	Nº Muestra (vial (1)Transparente y (2)Ámbar)	% Remanente	Color	pH	mg/TAB	NÚMERO DE LOTE
0	20	1	1	1	101.848	Naranja	7.91	5.09239	1
				2	103.538	Naranja	7.68	5.17692	2
			2	1	100.575	Naranja	7.53	5.02874	2
				2	102.006	Naranja	7.40	5.10028	1
		2	1	1	102.767	Naranja	7.55	5.13833	1
				2	102.393	Naranja	7.81	5.11965	2
			2	1	101.902	Naranja	7.32	5.09508	2
				2	101.163	Naranja	7.06	5.05816	1
		3	1	1	102.613	Naranja	7.37	5.13067	1
				2	103.928	Naranja	7.90	5.19640	2
			2	1	102.071	Naranja	7.22	5.10355	2
				2	102.691	Naranja	7.49	5.13454	1

**Tabla 15.** Datos estabilidad a tiempo cero

Tiempo de Muestreo (Horas)	T ° C	Replica	Nº Muestra ((1)NaCl 0.9% y (2)Dextrosa 5%)	Nº Muestra (vial (1)Transparente y (2)ámbar)	% Remanente	Color	pH	mg/TAB	NÚMERO DE LOTE
12	40	1	1	1	100.734	Naranja	7.64	5.03669	1
				2	98.324	Naranja	7.84	4.91621	2
			2	1	99.322	Naranja	7.25	4.96612	2
				2	102.188	Naranja	7.53	5.10941	1
		2	1	1	100.849	Naranja	7.77	5.04244	1
				2	101.441	Naranja	7.68	5.07203	2
			2	1	98.164	Naranja	7.58	4.90819	2
				2	99.830	Naranja	7.43	4.99150	1
		3	1	1	99.931	Naranja	7.80	4.99654	1
				2	99.823	Naranja	7.69	4.99116	2
			2	1	99.439	Naranja	7.54	4.97194	2
				2	100.598	Naranja	7.03	5.02988	1
	30	1	1	1	104.357	Naranja	7.00	5.21785	1
				2	99.042	Naranja	7.89	4.95210	2
			2	1	100.597	Naranja	7.05	5.02984	2
				2	101.372	Naranja	7.43	5.06858	1
		2	1	1	100.596	Naranja	7.90	5.02979	1
				2	99.099	Naranja	7.73	4.95493	2
			2	1	99.490	Naranja	7.42	4.97450	2
				2	100.985	Naranja	7.33	5.04926	1
		3	1	1	100.904	Naranja	7.71	5.04520	1
				2	97.525	Naranja	7.84	4.87623	2
			2	1	102.634	Naranja	7.29	5.13171	2
				2	102.113	Naranja	7.46	5.10566	1
	5	1	1	1	101.636	Naranja	7.53	5.08180	1
				2	100.338	Naranja	7.78	5.01692	2
			2	1	100.382	Naranja	7.09	5.01911	2
				2	101.291	Naranja	7.26	5.06457	1
		2	1	1	100.684	Naranja	7.58	5.03418	1
				2	98.696	Naranja	7.70	4.93478	2
			2	1	98.882	Naranja	7.25	4.94412	2
				2	98.096	Naranja	7.23	4.90478	1
		3	1	1	100.809	Naranja	7.85	5.04045	1
				2	102.245	Naranja	7.37	5.11223	2
			2	1	100.760	Naranja	7.42	5.03798	2
				2	100.318	Naranja	7.41	5.01591	1

**Tabla 16.** Datos estabilidad a 12 horas

Tiempo de Muestreo (Horas)	T ° C	Replica	Nº Muestra ((1)NaCl 0.9% y (2)Dextrosa 5%)	Nº Muestra (vial (1)Transparente y (2)ámbar)	% Remanente	Color	pH	mg/TAB	NÚMERO DE LOTE	
24	40	1	1	1	100.774	Naranja	7.82	5.03872	1	
				2	98.154	Naranja	7.57	4.90768	2	
			2	1	99.275	Naranja	7.21	4.96375	2	
				2	100.942	Naranja	7.39	5.04712	1	
		2	1	1	99.612	Naranja	7.72	4.98060	1	
				2	99.495	Naranja	7.50	4.97475	2	
			2	1	99.471	Naranja	7.08	4.97355	2	
				2	100.712	Naranja	7.31	5.03558	1	
		3	1	1	102.881	Naranja	7.55	5.14407	1	
				2	100.025	Naranja	7.47	5.00127	2	
			2	1	98.258	Naranja	7.38	4.91290	2	
				2	102.344	Naranja	7.41	5.11719	1	
		30	1	1	1	99.360	Naranja	7.82	4.96802	1
					2	99.442	Naranja	7.61	4.97210	2
				2	1	99.513	Naranja	7.22	4.97567	2
					2	101.987	Naranja	7.07	5.09933	1
			2	1	1	99.258	Naranja	7.61	4.96289	1
					2	99.372	Naranja	7.58	4.96858	2
	2			1	101.721	Naranja	7.33	5.08606	2	
				2	99.530	Naranja	7.28	4.97652	1	
	3		1	1	96.689	Naranja	7.73	4.83445	1	
				2	100.007	Naranja	7.79	5.00035	2	
			2	1	98.959	Naranja	7.34	4.94795	2	
				2	99.920	Naranja	7.27	4.99600	1	
	5		1	1	1	98.546	Naranja	7.49	4.92730	1
					2	97.900	Naranja	7.62	4.89500	2
				2	1	99.597	Naranja	7.05	4.97983	2
					2	100.286	Naranja	7.51	5.01430	1
			2	1	1	97.546	Naranja	7.69	4.87732	1
					2	100.595	Naranja	7.68	5.02976	2
		2		1	100.424	Naranja	7.42	5.02118	2	
				2	105.916	Naranja	7.35	5.29581	1	
		3	1	1	98.932	Naranja	7.62	4.94661	1	
				2	99.403	Naranja	7.51	4.97016	2	
			2	1	103.495	Naranja	7.32	5.17474	2	
				2	101.451	Naranja	7.40	5.07255	1	

Tabla 17. Datos estabilidad a 24 horas

Tiempo de Muestreo (Horas)	T ° C	Replica	Nº Muestra ((1)NaCl 0.9% y (2)Dextrosa 5%)	Nº Muestra (vial (1)Transparente y (2)ámbar)	% Remanente	Color	pH	mg/TAB	NÚMERO DE LOTE
48	40	1	1	1	100.908	Naranja	7.51	5.04542	1
				2	100.780	Naranja	7.69	5.03901	2
			2	1	102.865	Naranja	7.38	5.14323	2
				2	100.246	Naranja	7.21	5.01228	1
		2	1	1	98.404	Naranja	7.52	4.92018	1
				2	97.662	Naranja	7.49	4.88308	2
			2	1	100.304	Naranja	7.03	5.01521	2
				2	99.609	Naranja	7.09	4.98046	1
		3	1	1	100.625	Naranja	7.48	5.03123	1
				2	98.205	Naranja	7.61	4.91024	2
			2	1	100.283	Naranja	7.26	5.01415	2
				2	98.316	Naranja	7.39	4.91582	1
	30	1	1	1	98.129	Naranja	7.37	4.90643	1
				2	100.087	Naranja	7.50	5.00433	2
			2	1	100.379	Naranja	7.24	5.01894	2
				2	99.760	Naranja	7.12	4.98801	1
		2	1	1	101.734	Naranja	7.43	5.08671	1
				2	97.417	Naranja	7.51	4.87086	2
			2	1	100.931	Naranja	7.15	5.04654	2
				2	99.634	Naranja	7.19	4.98170	1
		3	1	1	97.921	Naranja	7.36	4.89603	1
				2	99.411	Naranja	7.51	4.97054	2
			2	1	100.134	Naranja	7.21	5.00670	2
				2	97.608	Naranja	7.38	4.88038	1
	5	1	1	1	98.335	Naranja	7.25	4.91675	1
				2	102.582	Naranja	7.61	5.12910	2
			2	1	101.136	Naranja	7.19	5.05681	2
				2	103.601	Naranja	7.27	5.18003	1
		2	1	1	99.702	Naranja	7.43	4.98509	1
				2	98.136	Naranja	7.60	4.90680	2
			2	1	99.380	Naranja	7.04	4.96901	2
				2	99.531	Naranja	7.00	4.97656	1
		3	1	1	101.607	Naranja	7.53	5.08033	1
				2	98.823	Naranja	7.44	4.94114	2
			2	1	99.055	Naranja	7.14	4.95277	2
				2	101.548	Naranja	7.23	5.07738	1

**Tabla 18.** Datos estabilidad a 48 horas

Tiempo de Muestreo (Horas)	T ° C	Replica	Nº Muestra ((1)NaCl 0.9% y (2)Dextrosa 5%)	Nº Muestra (vial (1)Transparente y (2)ámbar)	% Remanente	Color	pH	mg/TAB	NÚMERO DE LOTE
72	40	1	1	1	98.446	Naranja	7.42	4.92232	1
				2	98.431	Naranja	7.51	4.92157	2
			2	1	99.930	Naranja	7.18	4.99648	2
				2	100.926	Naranja	7.26	5.04628	1
		2	1	1	99.607	Naranja	7.43	4.98034	1
				2	98.518	Naranja	7.39	4.92592	2
			2	1	101.732	Naranja	7.11	5.08659	2
				2	100.042	Naranja	7.09	5.00211	1
		3	1	1	97.735	Naranja	7.54	4.88673	1
				2	97.704	Naranja	7.63	4.88519	2
			2	1	101.476	Naranja	7.35	5.07378	2
				2	100.138	Naranja	7.20	5.00688	1
	30	1	1	1	99.076	Naranja	7.39	4.95382	1
				2	98.466	Naranja	7.48	4.92329	2
			2	1	99.250	Naranja	7.15	4.96248	2
				2	102.209	Naranja	7.30	5.11045	1
		2	1	1	100.133	Naranja	7.42	5.00664	1
				2	100.685	Naranja	7.53	5.03427	2
			2	1	98.693	Naranja	7.29	4.93464	2
				2	99.929	Naranja	7.17	4.99643	1
		3	1	1	99.202	Naranja	7.62	4.96009	1
				2	97.959	Naranja	7.54	4.89796	2
			2	1	100.917	Naranja	7.19	5.04587	2
				2	99.249	Naranja	7.28	4.96244	1
	5	1	1	1	98.987	Naranja	7.34	4.94936	1
				2	98.956	Naranja	7.51	4.94781	2
			2	1	100.864	Naranja	7.05	5.04319	2
				2	99.186	Naranja	7.24	4.95932	1
		2	1	1	98.030	Naranja	7.60	4.90148	1
				2	101.947	Naranja	7.53	5.09735	2
			2	1	99.765	Naranja	7.03	4.98824	2
				2	99.084	Naranja	7.19	4.95422	1
		3	1	1	99.673	Naranja	7.54	4.98363	1
				2	98.348	Naranja	7.48	4.91738	2
			2	1	98.817	Naranja	7.39	4.94084	2
				2	100.193	Naranja	7.27	5.00963	1

Tabla 19. Datos estabilidad a 72 horas

Tiempo de Muestreo (Horas)	T ° C	Replica	Nº Muestra ((1)NaCl 0.9% y (2)Dextrosa 5%)	Nº Muestra (vial (1)Transparente y (2)ámbar)	% Remanente	Color	pH	mg/TAB	NÚMERO DE LOTE
96	40	1	1	1	98.165	Naranja	7.43	4.90827	1
				2	97.718	Naranja	7.38	4.88588	2
			2	1	100.169	Naranja	7.16	5.00844	2
				2	100.630	Naranja	7.25	5.03151	1
		2	1	1	99.154	Naranja	7.51	4.95770	1
				2	99.362	Naranja	7.60	4.96809	2
			2	1	102.691	Naranja	7.15	5.13457	2
				2	98.856	Naranja	7.33	4.94279	1
		3	1	1	99.504	Naranja	7.51	4.97520	1
				2	99.363	Naranja	7.42	4.96814	2
			2	1	100.027	Naranja	7.19	5.00134	2
				2	98.771	Naranja	7.07	4.93855	1
	30	1	1	1	99.091	Naranja	7.43	4.95454	1
				2	98.468	Naranja	7.60	4.92341	2
			2	1	99.056	Naranja	7.17	4.95281	2
				2	102.326	Naranja	7.26	5.11632	1
		2	1	1	99.554	Naranja	7.56	4.97769	1
				2	98.537	Naranja	7.49	4.92687	2
			2	1	97.029	Naranja	7.00	4.85146	2
				2	98.909	Naranja	7.24	4.94546	1
		3	1	1	98.647	Naranja	7.32	4.93234	1
				2	98.204	Naranja	7.39	4.91021	2
			2	1	98.483	Naranja	7.26	4.92414	2
				2	97.149	Naranja	7.29	4.85747	1
	5	1	1	1	98.928	Naranja	7.40	4.94641	1
				2	101.527	Naranja	7.38	5.07634	2
			2	1	99.996	Naranja	7.20	4.99981	2
				2	100.210	Naranja	7.09	5.01051	1
		2	1	1	103.744	Naranja	7.47	5.18722	1
				2	97.867	Naranja	7.50	4.89336	2
			2	1	100.389	Naranja	7.39	5.01944	2
				2	102.189	Naranja	7.22	5.10945	1
		3	1	1	98.703	Naranja	7.41	4.93514	1
				2	98.700	Naranja	7.59	4.93500	2
			2	1	102.142	Naranja	7.29	5.10710	2
				2	100.701	Naranja	7.14	5.03507	1

**Tabla 20.** Datos estabilidad a 96 horas

Tiempo de Muestreo (Horas)	T ° C	Replica	Nº Muestra ((1)NaCl 0.9% y (2)Dextrosa 5%)	Nº Muestra (vial (1)Transparente y (2)ámbar)	% Remanente	Color	pH	mg/TAB	NÚMERO DE LOTE
336	40	1	1	1	100.667	Naranja	7.23	5.03334	1
				2	101.421	Naranja	7.39	5.07104	2
			2	1	103.064	Naranja	7.24	5.15322	2
				2	101.336	Naranja	7.21	5.06680	1
		2	1	1	99.913	Naranja	7.39	4.99563	1
				2	101.765	Naranja	7.43	5.08823	2
			2	1	101.634	Naranja	7.06	5.08172	2
				2	100.958	Naranja	7.00	5.04790	1
		3	1	1	101.825	Naranja	7.29	5.09125	1
				2	100.374	Naranja	7.36	5.01871	2
			2	1	103.104	Naranja	7.12	5.15518	2
				2	101.154	Naranja	7.32	5.05772	1
	30	1	1	1	102.929	Naranja	7.29	5.14644	1
				2	102.966	Naranja	7.38	5.14830	2
			2	1	102.173	Naranja	7.15	5.10865	2
				2	101.125	Naranja	7.04	5.05625	1
		2	1	1	102.051	Naranja	7.41	5.10257	1
				2	100.501	Naranja	7.36	5.02503	2
			2	1	97.017	Naranja	7.19	4.85084	2
				2	102.598	Naranja	7.23	5.12990	1
		3	1	1	99.088	Naranja	7.36	4.95442	1
				2	101.418	Naranja	7.42	5.07092	2
			2	1	99.670	Naranja	7.20	4.98352	2
				2	100.619	Naranja	7.16	5.03097	1
	5	1	1	1	100.028	Naranja	7.45	5.00138	1
				2	102.442	Naranja	7.39	5.12208	2
			2	1	99.447	Naranja	7.23	4.97237	2
				2	98.502	Naranja	7.20	4.92509	1
		2	1	1	100.513	Naranja	7.40	5.02563	1
				2	101.487	Naranja	7.47	5.07433	2
			2	1	100.194	Naranja	7.19	5.00972	2
				2	99.708	Naranja	7.24	4.98539	1
		3	1	1	102.127	Naranja	7.49	5.10636	1
				2	102.242	Naranja	7.52	5.11208	2
			2	1	101.899	Naranja	7.08	5.09494	2
				2	98.236	Naranja	7.37	4.91179	1

**Tabla 21.** Datos estabilidad a 336 horas

DATOS 40°C		DATOS 30°C		DATOS 5°C		TODOS LOS DATOS	
PROMEDIO % REMANENTE	100.099	PROMEDIO % REMANENTE	99.875	PROMEDIO % REMANENTE	100.242	PROMEDIO % REMANENTE	100.189
SD	1.414	SD	1.631	SD	1.646	SD	1.617
RSD	1.413	RSD	1.633	RSD	1.642	RSD	1.614
t exp	0.592	t exp	0.650	t exp	1.251	t exp	1.765
t tab	1.960	t tab	1.960	t tab	1.960	t tab	1.960
PROMEDIO pH	7.389	PROMEDIO pH	7.378	PROMEDIO pH	7.377	PROMEDIO pH	7.381
SD	0.209	SD	0.213	SD	0.192	SD	0.204

**Tabla 22.** Prueba t de Student para % remanente y desviación estándar para el pH por temperatura y datos totales

Tiempo (horas)	% Remanente	
	Lote 1	Lote 2
0	101.8	103.5
0	102.8	102.4
0	102.6	103.9
12	100.7	98.3
12	100.8	101.4
12	99.9	99.8
24	100.8	98.2
24	99.6	99.5
24	102.9	100.0
48	100.9	100.8
48	98.4	97.7
48	100.6	98.2
72	98.4	98.4
72	99.6	98.5
72	97.7	97.7
96	98.2	97.7
96	99.2	99.4
96	99.5	99.4
336	100.7	101.4
336	99.9	101.8
336	101.8	100.4

**Tabla 23.** Datos para la prueba F de Fisher para la combinación de lotes en NaCl 0.9%

Regresión Lote 1		Regresión Lote 2		Regresión Lotes 1 y 2	
Intercepto	100.43	Intercepto	99.79	Intercepto	100.113
Pendiente	-0.00120	Pendiente	0.00157	Pendiente	0.00018
SY <sup>2</sup>	211440.03	SY <sup>2</sup>	209757.46	SY <sup>2</sup>	421197
SY	2106.96	SY	2098.42	SY	4205.38
SXY	176693.19	SXY	176647.80	SXY	353341
SCR	45.13	SCR	72.06	SCR	119.861
r <sup>2</sup>	0.0077	r <sup>2</sup>	0.0082	r <sup>2</sup>	0.0001

Tabla 24. Datos de regresión del lote 1, 2 y ambos en NaCl 0.9%

Modelos				
Comparación	gln	gld	F cal	F tab
L1 y L2	2	38	0.432	3.232

Tabla 25. Prueba F de Fisher para la combinación de los lotes 1 y 2 en NaCl 0.9%

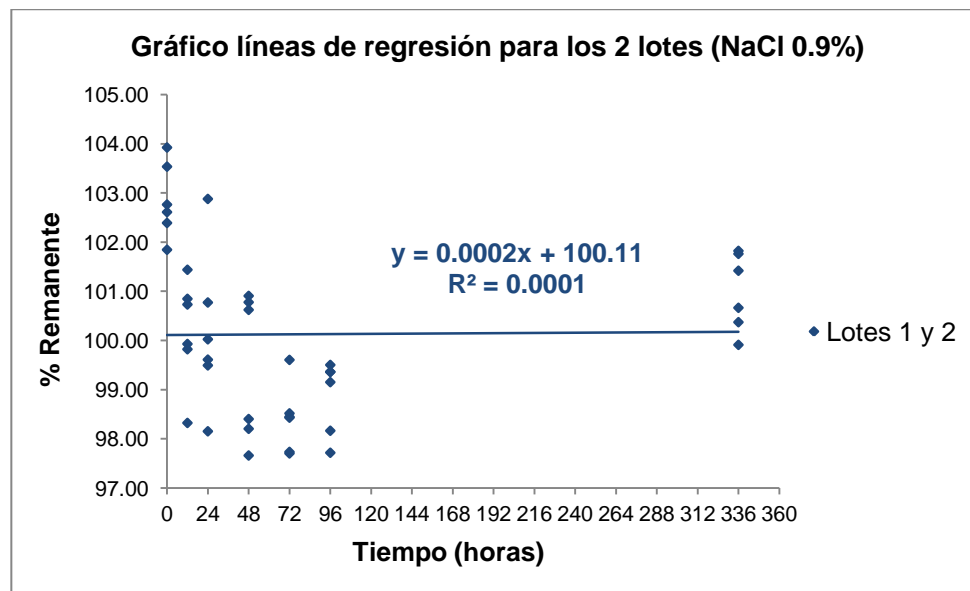


Figura 11. Gráfico líneas de regresión para los lotes 1 y 2 en NaCl 0.9%

Tiempo (horas)	% Remanente	
	Lote 1	Lote 2
0	102.0	100.6
0	101.2	101.9
0	102.7	102.1
12	102.2	99.3
12	99.8	98.2
12	100.6	99.4
24	100.9	99.3
24	100.7	99.5
24	102.3	98.3
48	100.2	102.9
48	99.6	100.3
48	98.3	100.3
72	100.9	99.9
72	100.0	101.7
72	100.1	101.5
96	100.6	100.2
96	98.9	102.7
96	98.8	100.0
336	101.3	103.1
336	101.0	101.6
336	101.2	103.1

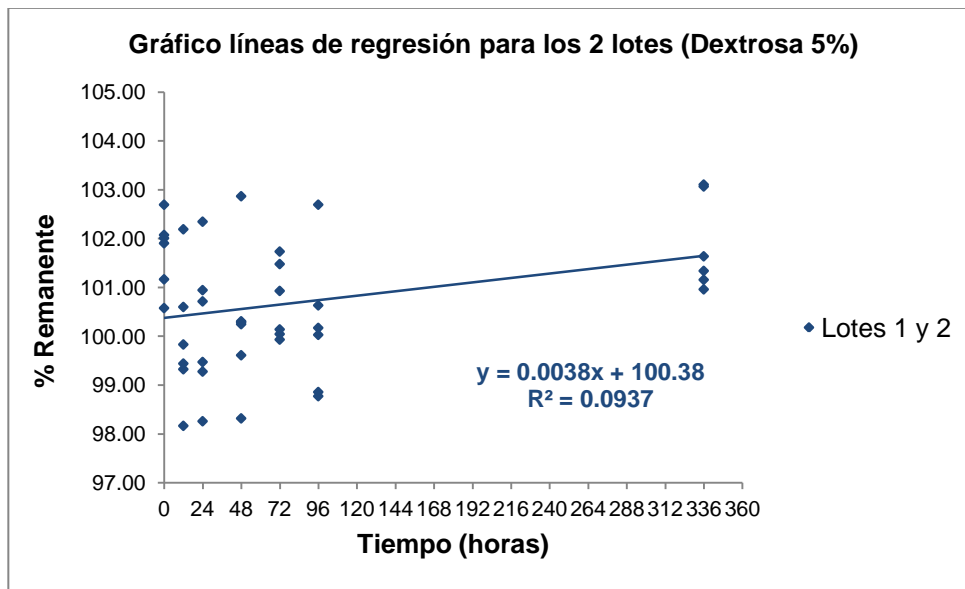
**Tabla 26.** Datos para la prueba F de Fisher para la combinación de lotes en Dextrosa 5.0%

Regresión Lote 1		Regresión Lote 2		Regresión Lotes 1 y 2	
<b>Intercepto</b>	100.65	<b>Intercepto</b>	100.11	<b>Intercepto</b>	100.38
<b>Pendiente</b>	-0.00008	<b>Pendiente</b>	0.00765	<b>Pendiente</b>	0.00379
<b>SY2</b>	212726.90	<b>SY2</b>	213209.67	<b>SY2</b>	425936.56
<b>SY</b>	2113.46	<b>SY</b>	2115.75	<b>SY</b>	4229.21
<b>SXY</b>	177510.48	<b>SXY</b>	179581.50	<b>SXY</b>	357091.98
<b>SCR</b>	27.23	<b>SCR</b>	32.71	<b>SCR</b>	67.33
<b>r2</b>	0.00006	<b>r2</b>	0.30303	<b>r2</b>	0.09369

**Tabla 27.** Datos de regresión del lote 1, 2 y ambos en Dextrosa 5.0%

Modelos				
Comparación	gln	gld	Fcal	F tab
L1 y L2	2	38	2.342	3.232

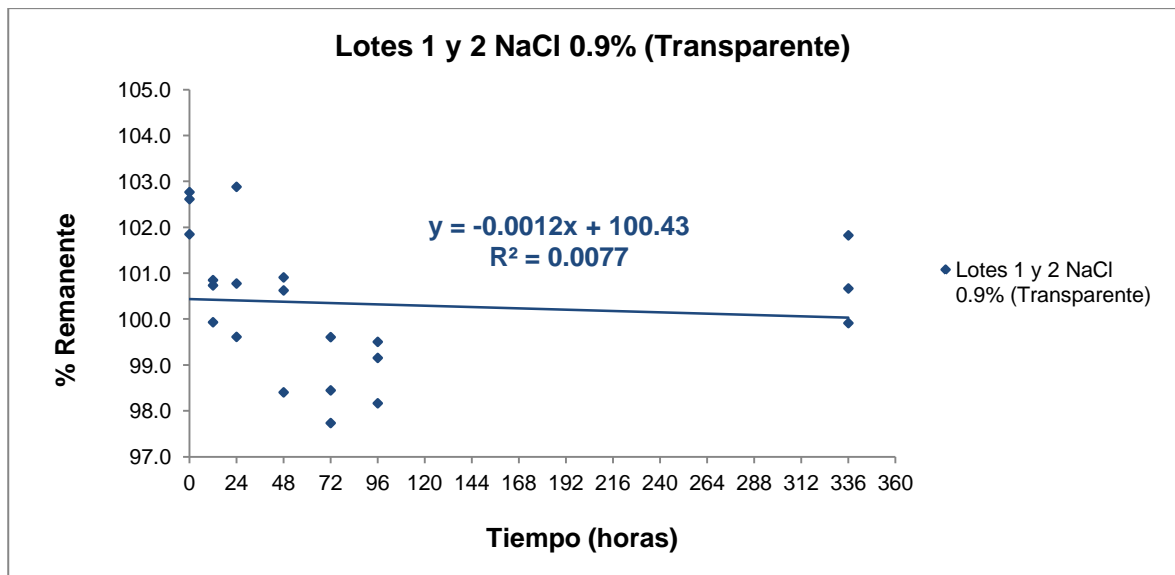
**Tabla 28.** Prueba F de Fisher para la combinación de los lotes 1 y 2 en Dextrosa 5.0%



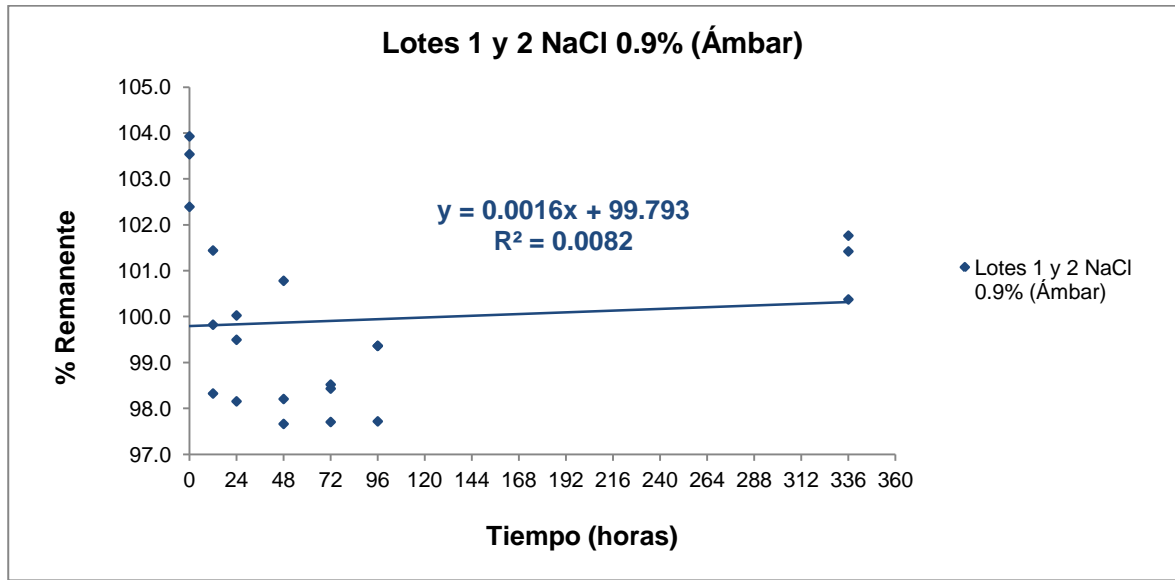
**Figura 12.** Gráfico líneas de regresión para los lotes 1 y 2 en Dextrosa 5.0%

% Remanente	
NaCl 0.9%	
Transparente	Ámbar
101.8	103.5
102.8	102.4
102.6	103.9
100.7	98.3
100.8	101.4
99.9	99.8
100.8	98.2
99.6	99.5
102.9	100.0
100.9	100.8
98.4	97.7
100.6	98.2
98.4	98.4
99.6	98.5
97.7	97.7
98.2	97.7
99.2	99.4
99.5	99.4
100.7	101.4
99.9	101.8
101.8	100.4

**Tabla 29.** Datos de regresión para los dos tipos de envase en NaCl 0.9%



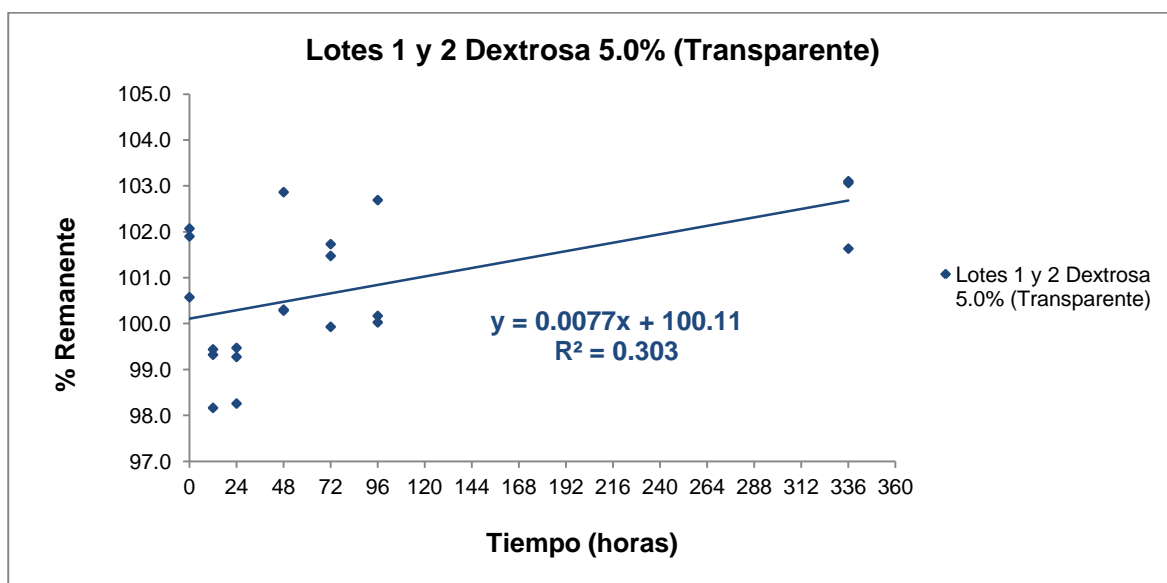
**Figura 13.** Gráfico de regresión para los lotes 1 y 2 en NaCl 0.9% y envase transparente



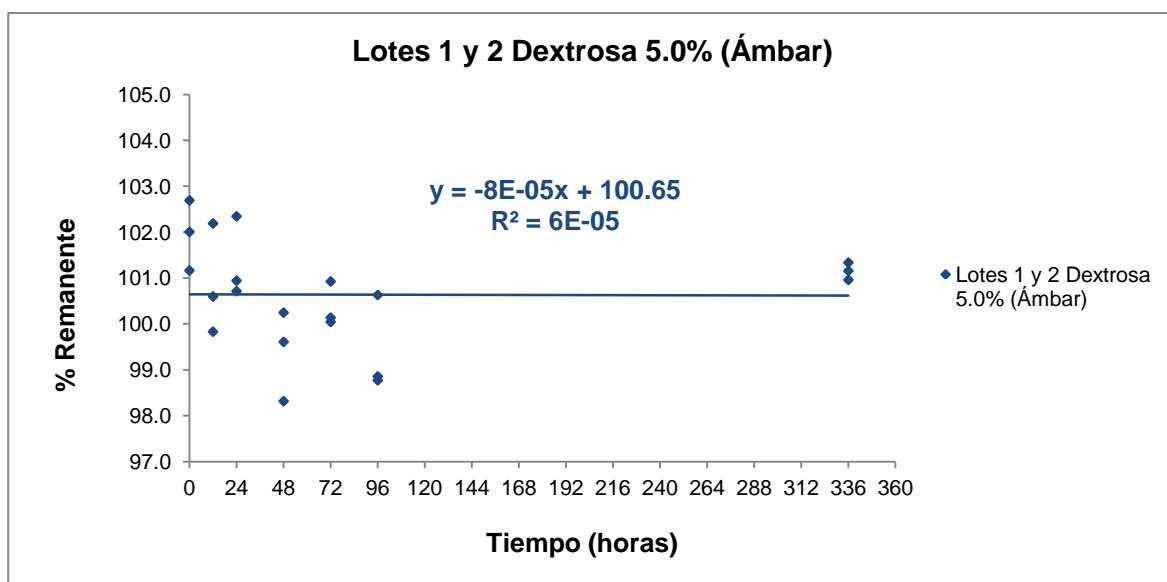
**Figura 14.** Gráfico de regresión para los lotes 1 y 2 en NaCl 0.9% y envase ámbar

% Remanente	
Dextrosa 5.0%	
Transparente	Ámbar
100.6	102.0
101.9	101.2
102.1	102.7
99.3	102.2
98.2	99.8
99.4	100.6
99.3	100.9
99.5	100.7
98.3	102.3
102.9	100.2
100.3	99.6
100.3	98.3
99.9	100.9
101.7	100.0
101.5	100.1
100.2	100.6
102.7	98.9
100.0	98.8
103.1	101.3
101.6	101.0
103.1	101.2

**Tabla 30.** Datos de regresión para los dos tipos de envase en Dextrosa 5.0%



**Figura 15.** Gráfico de regresión para los lotes 1 y 2 en Dextrosa 5.0% y envase transparente



**Figura 16.** Gráfico de regresión para los lotes 1 y 2 en Dextrosa 5.0% y envase ámbar

Sistema	*k (g/100mL hora)	b
NaCl 0.9% (Transparente)	0.0012	-0.0012
NaCl 0.9% (Ámbar)	-0.0016	0.0016
Dextrosa 5.0% (Transparente)	-0.0077	0.0077
Dextrosa 5.0% (Ámbar)	0.00008	-0.00008

\*k = - b

**Tabla 31.** Constantes de velocidad de descomposición para los diferentes sistemas

<b>NaCl 0.9% (Transparente)</b>		<b>NaCl 0.9% (Ámbar)</b>	
<b>Límites de confianza (LC)</b>		<b>Límites de confianza (LC)</b>	
<b>S<sup>2</sup>XY</b>	22276.535	<b>S<sup>2</sup>XY</b>	22046.463
<b>Sb</b>	0.303	<b>Sb</b>	0.301
<b>t<sub>obs</sub></b>	0.004	<b>t<sub>obs</sub></b>	0.005
<b>t<sub>tab</sub></b>	2.093	<b>t<sub>tab</sub></b>	2.093
<b>Superior</b>	0.633	<b>Superior</b>	0.632
<b>Inferior</b>	-0.635	<b>Inferior</b>	-0.629
<b>Intervalo (IC)</b>	1.268	<b>Intervalo (IC)</b>	1.261

**Tabla 32.** Intervalos de confianza para los sistemas en NaCl 0.9%

<b>Dextrosa 5.0% (Transparente)</b>		<b>Dextrosa 5.0% (Ámbar)</b>	
<b>Límites de confianza (LC)</b>		<b>Límites de confianza (LC)</b>	
<b>S<sup>2</sup>XY</b>	22296.583	<b>S<sup>2</sup>XY</b>	22392.651
<b>Sb</b>	0.303	<b>Sb</b>	0.304
<b>t<sub>obs</sub></b>	0.025	<b>t<sub>obs</sub></b>	0.000
<b>t<sub>tab</sub></b>	2.093	<b>t<sub>tab</sub></b>	2.093
<b>Superior</b>	0.642	<b>Superior</b>	0.636
<b>Inferior</b>	-0.627	<b>Inferior</b>	-0.636
<b>Intervalo (IC)</b>	1.269	<b>Intervalo (IC)</b>	1.271

**Tabla 33.** Intervalos de confianza para los sistemas en Dextrosa 5.0%

En primer lugar se verificó la factibilidad de unir los dos lotes sometidos al estudio, para trabajarlos como uno solo en los dos vehículos (Dextrosa 5.0% y NaCl 0.9%). Ya que durante el estudio no se obtuvo un porcentaje de degradación superior al 3.3%, no se pudo asignar con exactitud un orden cinético y una constante de velocidad de degradación por lo que se asumió cinética de orden cero debido a que con este, se obtienen porcentajes de degradación mayores y se asegura que para el tiempo de uso asignado, el paciente recibirá, siguiendo los procedimientos establecidos, la cantidad de fármaco que requiere.

Las tablas 23, 24 y 25 muestran los datos para los lotes 1 y 2 en NaCl 0.9% utilizados para la prueba F de Fisher para los modelos, el resultado del F calculado (0.432) fue inferior al tabulado (3.232) por lo que se cumplió la hipótesis nula ( $H_0: L1 = L2$ ) y por lo tanto se pudo mezclar los lotes. La gráfica 11 muestra la regresión para este sistema.

Las tablas 26, 27 y 28 muestran los datos para los lotes 1 y 2 en Dextrosa 5.0% utilizados para la prueba F de Fisher para los modelos, el resultado del F calculado (2.342) fue inferior al tablado (3.232) por lo que se cumplió la hipótesis nula ( $H_0: L1 = L2$ ) y por lo tanto se pudo mezclar los lotes. La gráfica 12 muestra la regresión para este sistema.

Luego se construyó las curvas de regresión para cada sistema, es decir, cada vehículo en cada tipo de envase, con el fin de calcular las constantes de velocidad de degradación de cada uno y los límites de confianza de la pendiente de manera confirmatoria, para de esta forma poder precisar cual sistema es más estable. La tabla 29 muestra los datos para la construcción de las curvas en NaCl 0.9% (envase transparente y ámbar) y la tabla 30 los datos para la construcción de las curvas en Dextrosa 5.0% (envase transparente y ámbar). La tabla 31 muestra las constantes de velocidad de descomposición para cada sistema ( $K = -$  pendiente), siendo la mayor para el sistema NaCl 0.9% en envase transparente (0.0012 g/100mL hora) y la menor para el sistema Dextrosa 5.0% en envase transparente (-0.0077 g/100mL hora). Por otro lado las tablas 32 y 33 muestran los intervalos de confianza para los sistemas en NaCl 0.9% y Dextrosa 5.0% respectivamente, siendo el mayor para el sistema Dextrosa 5.0% en envase ámbar (1.271) y el menor para el sistema NaCl 0.9% en envase ámbar (1.261) y el intervalo para el sistema con menor constante de velocidad de degradación (Dextrosa 5.0% en envase transparente) fue 1.269. Ya que el intervalo de confianza es la incertidumbre de la medición y determina los valores entre los cuales se encuentra el valor verdadero de la pendiente, entre menor sea, hay más confianza en la medición. Con base en lo dicho anteriormente aunque el sistema Dextrosa 5.0% en envase transparente tuvo la menor constante de velocidad de degradación no se puede afirmar que es el más estable ya que no tuvo el menor intervalo de confianza, mientras que el sistema NaCl 0.9% en envase ámbar, si lo tuvo, además, este último tuvo la segunda constante de velocidad de degradación más baja (-0.0016 g/100 mL hora) y debido a que la prueba F de Fisher arrojó un valor inferior para los sistemas en NaCl 0.9% (0.432), con respecto a los sistemas en Dextrosa 5.0% (2.342), se puede afirmar que el sistema más estable es NaCl 0.9% en envase ámbar.

En la tabla 22 se puede apreciar que durante el tiempo del estudio, todas las muestras tanto a 5, 30 como a 40°C fueron muy estables, con promedios de porcentajes remanentes de 100.2, 99.9 y 100.1% respectivamente. La misma tabla presenta para la prueba t de Student, t experimentales menores (1.251 para 5°C, 0.650 para 30°C y 0.592 para 40°C) a la t tabulada (1.960), con lo que se afirma que los datos no son estadísticamente diferentes al 100%.

Los resultados del pH de la suspensión durante el tiempo de estudio (336 horas), se mantuvieron entre 7.0 y 8.0 y no se apreciaron cambios en el color o la apariencia de la misma

(ver tablas de la 15 a la 21). Como se indicó en este documento la warfarina base es poco soluble y más inestable, pero el pH de la suspensión por encima de la neutralidad, favoreció la forma ionizada de la warfarina, lo que puede explicar la estabilidad de la suspensión durante el estudio, hecho que se pudo visualizar con el mantenimiento del color y la apariencia de la misma. (Ver anexos del 12 al 16)

#### **4.4. Protocolo de elaboración de la preparación extemporánea**

##### **4.4.1. Propósito**

Establecer el procedimiento para realizar la preparación extemporánea líquida de warfarina sódica vía peroral, utilizada en pacientes con terapia anticoagulante, ambulatorios y hospitalarios a la concentración habitualmente manejada, la cual es: 5 mg/10mL; a partir de la presentación comercial de tabletas de 5 mg; de acuerdo a los resultados del estudio de estabilidad realizado.

##### **4.4.2. Consideraciones importantes**

La adecuación de formas farmacéuticas debe ser realizada en un área limpia, ya que requiere la manipulación directa del producto, retirando su envase original para ser entregado en una presentación no comercial, por tal motivo debe ser realizado en el área gris de la central de mezclas. Después de cada actividad de adecuación del medicamento, se debe efectuar el reempaque de las tabletas que contenga la presentación comercial a fin de no generar residuos de medicamentos sin identificar. Los estudios de estabilidad que dieron origen a este protocolo fueron realizados con los materiales e insumos aquí presentados, se recomienda hacer uso de los descritos (Se recomienda usar en todos los casos tabletas de 5 mg). La estabilidad del principio activo permite el almacenamiento a temperatura ambiente, pero se recomienda almacenar la preparación bajo refrigeración, a fin de evitar contaminación de la preparación extemporánea. Si el uso está programado para un periodo no mayor a 3 días, puede ser almacenada la preparación a temperatura ambiente.

##### **4.4.3. Materiales**

1. Mortero de porcelana con pistilo de porcelana.

2. Jeringa desechable de 50 mL.
3. Frasco ámbar de 30 mL con tapa rosca.
4. Guantes de látex.
5. Tapabocas.
6. Pesa sustancias.
7. Balón aforado de 50 mL.
8. Gotero de plástico.
9. Etiqueta de identificación del medicamento (dosis, concentración, recomendaciones, etc.).

#### **4.4.4. Materia prima**

1. Tabletas de warfarina sódica de 5 mg.
2. Vehículo: Dextrosa al 5% (D.A.D 5%), bolsa por 500 mL ó NaCl 0.9%, bolsa por 500 mL. (Si el paciente es diabético se utilizará siempre NaCl 0.9%)

#### **4.4.5. Procedimiento**

##### **4.4.5.1. Alistamiento de los materiales posterior a la recepción de la solicitud por parte del médico prescriptor**

- Recepción de la orden médica.
- Adecuación (alistamiento y verificación de la limpieza) de los materiales a utilizar.
- Alistamiento del personal encargado para la realización de esta labor.

##### **4.4.5.2. Preparación de la suspensión**

Con base en los resultados obtenidos se estableció el siguiente protocolo para elaborar la suspensión de warfarina sódica de concentración 5mg/10mL:

1. Extraer 30 tabletas de warfarina sódica (etiquetadas en el blíster con dosis de 5 mg de warfarina sódica) teniendo cuidado de no quebrarlas.

**Nota:** al tomar 30 tabletas con reporte de 5 mg de Warfarina sódica (WS) se parte de 150 mg de WS para la preparación extemporánea.

2. Pesar las tabletas individualmente utilizando guantes de látex y anotar el peso promedio.
3. Llevar las tabletas a un mortero de porcelana, triturar hasta obtener un polvo fino con la ayuda de un pistilo, teniendo cuidado no botar el polvo.
4. Pesar aproximadamente el equivalente a 25 mg de warfarina sódica (1.1 gramos aproximadamente), utilizando un papel o pesa sustancias adecuado.
5. Transferir el polvo a un balón aforado de 50 mL, lavar el pesa sustancias con 10 mL del vehículo, recogiendo el lavado en el balón, adicionar 20 mL más del vehículo seleccionado (NaCl 0.9% ó Dextrosa 5.0%).
6. Agitar vigorosamente hasta obtener una suspensión homogénea y completar volumen con el vehículo hasta el aforo.
7. Transferir 30 mL de la suspensión a un frasco de vidrio ámbar o transparente con tapa rosca plástica.
8. Almacenar en un lugar limpio y seguro a una temperatura de 5 °C o en un lugar fresco a temperatura ambiente (no mayor a 30 °C) por un período máximo de 14 días.

**Nota:** como las 30 tabletas equivalen a 150 mg warfarina sódica, sobran aproximadamente 5.5 gramos de polvo, por lo que se repite el procedimiento a partir del numeral 4 cinco veces, con el fin de no perder el mismo. Además al envasar la suspensión en los frascos ámbar con tapa plástica rosca, sobran 20 mL por cada preparación, por lo que al utilizar todo el polvo se pueden envasar 120 mL más de la suspensión, es decir, se obtendrán 4 frascos con 30 mL más de ésta.

#### **4.4.6. Acondicionamiento del producto**

- Garantizar que todas las preparaciones estén previamente etiquetadas antes de abandonar la zona de adecuación de las mismas. Para ello se pueden usar las etiquetas para la preparación extemporánea (ver anexo 17) o las que considere el hospital, pero con la condición que no se omita ningún detalle de la información descrita en las etiquetas para la preparación extemporánea.

- Retirar las agujas de las jeringas con capuchón y depositarlas en el sitio demarcado para su almacenamiento.
- Colocar las jeringas en la caneca de residuos de jeringas.

#### **4.4.7. Recomendaciones**

- Verificar antes y después del proceso que no queden residuos de medicamentos, de igual forma depositar en las canecas respectivas todos los elementos empleados en la preparación de la suspensión.
- La homogenización de la suspensión previa administración al paciente es de vital importancia, por lo cual es de particular relevancia indicarle al paciente (o acudiente) la correcta agitación de la preparación extemporánea que le está siendo entregada, sobre todo si se va a mantener en condiciones de refrigeración. (Tiempo de agitación vigorosa aproximado de 20 segundos)
- Garantizar que el paciente (o acudiente) entienda todas las instrucciones contenidas en la etiqueta.

## Conclusiones

La metodología empleada para el estudio de estabilidad de la suspensión de warfarina sódica de concentración 5mg/10mL, es selectiva, lineal, precisa y exacta, lo que brinda confianza en los resultados obtenidos.

Durante el tiempo del estudio y a las condiciones a las que fue sometida, la suspensión no presentó porcentajes remanentes con diferencias estadísticamente significativas del 100%, lo que se evidenció en la conservación de las características físicas de la misma.

La suspensión más estable, fue la preparada utilizando como vehículo una solución de NaCl 0.9% y almacenada a una temperatura de 5°C y envasada en frasco de vidrio ámbar con tapa rosca plástica.

La preparación extemporánea en forma de suspensión de warfarina sódica, elaborada a partir de tabletas de 5mg del mercado nacional, siguiendo el protocolo y utilizando como vehículos solución de NaCl al 0.9% y solución de Dextrosa al 5.0%, envasada en frascos de vidrio ámbar o transparente con tapa rosca plástica y almacenada a una temperatura de 5°C, no presentó una variación significativa durante un período de 14 días y es recomendada para su uso seguro.

Durante el período de estudio no se evidenció cambios físicos en la suspensión, en ninguna de las condiciones evaluadas, lo que indica que la preparación extemporánea presenta estabilidad física, elaborada siguiendo el protocolo establecido.

## **Recomendaciones**

Agitar la suspensión vigorosamente por 20 segundos antes de su uso.

Mantener la suspensión bien cerrada y almacenada a una temperatura entre 5°C durante 14 días.

Si por alguna razón no se puede mantener la suspensión a la temperatura de 5°C, es posible almacenarla a temperatura ambiente durante 14 días.

Antes de administrar el volumen de suspensión, se debe evaluar las condiciones fisiopatológicas del paciente y ajustar la dosis durante la terapia de anticoagulación.

Seguir con rigurosidad el protocolo de elaboración de la preparación extemporánea.

Se podrá preparar la suspensión en una solución de NaCl 0.9% o solución de Dextrosa 5.0% y envasar en frasco de vidrio transparente o ámbar con tapa rosca, dependiendo de la disponibilidad de los mismos.

Se recomienda continuar con los estudios de estabilidad de las diferentes preparaciones extemporáneas que se elaboran cotidianamente en los centros hospitalarios, con el fin de ser usadas en forma segura.

Ampliar el estudio de estabilidad usando warfarina de otras marcas nacionales y de importación.

## **Bibliografía**

Porter, W. R. (2010). Warfarin: history, tautomerism and activity. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 24 (6-7), 553 – 573.

Flórez, J., Armijo, J. A., & Mediavilla, A. (1997). *Farmacología Humana*. Tercera Edición. Barcelona: Masson S.A.

Lankiewicz, M. W., Hays, J., Friedman, K. D., Tinkoff, G., & Blatt, P. M. (2006). Urgent reversal of warfarin with prothrombin complex concentrate. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 4 (5), 967 – 970.

Isaza, C., Henao, J., & Beltrán, L. (2010). Resistencia y Sensibilidad a Warfarina. *Investigaciones Andina*, 12 (20), 30 – 40.

Herreros, A. (1997). *Guía para el desarrollo de servicios farmacéuticos hospitalarios: Formulaciones magistrales*. OPS.

Borrás, C., Pérez C., & Jiménez, N.V. (1999) *Unidades de Terapia Intravenosa*. En: *Mezclas Intravenosas y Nutrición Parenteral*. Cuarta Edición. Valencia.

Bonal, J., & Domínguez, A. (1992). *Farmacia Hospitalaria*. Segunda Edición. España: Editorial Medica Internacional.

Quattrocchi, O. A., De Andrizzi, S. A., & Laba, R. F. (1992). *Introducción a la HPLC Aplicación y Práctica*. Buenos Aires: Artes Gráficas Farro S.A.

USP. (2012). *The United States Pharmacopeial Convention*. (35). Baltimore: City Press.

WHO. (1996). *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations*. (Thirty- fourth report). Geneve: Benteli.

Bruton, L. L., Lazo J. S., & Keith, L. P. (2006). *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Eleventh Edition. New York: Mc Graw Hill.

Miao, L., Yang, J., Huang, Ch., & Shen, Z. (2007). Contribution of age, body weight, and CYP2C9 and VKORC1 genotype to the anticoagulant response to warfarin: proposal for a new dosing regimen in Chinese patients. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 63 (12), 1135 - 1141.

Rettie, A. E., & Jones, J. P. (2005). Clinical and Toxicological Relevance of CYP2C9: Drug-Drug Interactions and Pharmacogenetics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45 (1), 477 - 494.

D'Andrea, G., D'Ambrosio, R., & Margaglione, M. (2007). Oral anticoagulants: Pharmacogenetics Relationship between genetic and non-genetic factors. *Blood Reviews*, 22 (3), 127 – 140.

Lippi, G., Franchini, M., & Favaloro, E. J. (2009). Pharmacogenetics of vitamin K antagonists: useful or hype? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 47 (5), 503 – 515.

Miller, G. P. (2010). Warfarin therapy: how the less interesting half just got interesting. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 8 (12), 2705 – 2707.

De Perdomo, B. S., Forastiero, R., Martinuzzo, M., & Kordich, L. (2001). Anticuerpos antifosfolípidos y proteína Z. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 48 (3), 166 - 169.

Kohnke, H., Sörlin, K., Göran, G., & Wadelius, M. (2005). Warfarin dose related to apolipoprotein E (*APOE*) genotype. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 61 (5 - 6), 381 - 388.

Johnson, J. A. (2008). Ethnic Differences in Cardiovascular Drug Response: Potential Contribution of Pharmacogenetics. *Circulation*, 118 (13), 1383 - 1393.

Launiainen, T., Sajantila, A., Rasanen, I., Vuori, E., & Ojanperä, I. (2010). Adverse interaction of warfarin and paracetamol: evidence from a post-mortem study. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 66 (1), 97 - 103.

Herman, D., Locatelli, I., Grabnar, I., Peternel, P., Stegnar, M., Lainščak, M., Mrhar, A., Breskvar, K., & Dolžan, V. (2006). The influence of co-treatment with carbamazepine,

amiodarona and statins on warfarin metabolism and maintenance dose. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 62 (4), 291 - 296.

Nakajima, M., Genda, T., Suehira, M., Satoh, H., Miki, A., Hori, S., & Sawada, Y. (2010). Increased anticoagulant activity of warfarin used in combination with doxifluridine. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 66 (5), 969 - 972.

Rombouts, E. K., Rosendaal, F. R., & Van der Meer, F. J. M. (2010). Influence of dietary vitamin K intake on subtherapeutic oral anticoagulant therapy. *British Journal of haematology*, 149 (4), 598 - 605.

Cryder, B., Felczak, M., Janociak, J., De la Pena, L., Allen, S., & Gutierrez, P. (2011). Prevalent aetiologies of non-therapeutic warfarin anticoagulation in a network of pharmacist-managed anticoagulation clinics. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 36 (1), 64 – 70.

Holbrook, A. M., Pereira, J. A., Labiris, R., McDonald, H., Douketis, J. D., Crowther, M., & Wells, P. S. (2005). Systematic Overview of Warfarin and Its Drug and Food Interactions. *Archives of Internal Medicine*, 165, 1095 – 1106.

Samsa, G., Matchar, D. B., Dolor, R. J., Wiklund, I., Hedner, E., Wygant, G., Hauch, O., Marple, C. B., & Edwards, R. (2004). A new instrument for measuring anticoagulation-related quality of life: development and preliminary validation. *Health and Quality of Life Outcomes*, 2 (22), 1 - 11.

Papaioannou, A., Kennedy, C. C., Campbell, G., Stroud, J. B., Wang, L., Dolovich, L., & Crowther, M. A. (2010). A team-based approach to warfarin management in long term care: A feasibility study of the MEDeINR electronic decision support system. *BMC Geriatrics*, 10 (38), 1 – 10.

Bianchi, A., Tripodi, A., Chantarangkul, V., & Mannucci, P. (2001). Near-Patient Testing Devices to Monitor Oral Anticoagulant Therapy. *British Journal of Haematology*, 113 (4), 847 – 852.

Schulman, S., El Bouazzaoui, B., Eikelboom, J. W., & Zondag, M. (2008). Clinical factors influencing the sensitivity to warfarin when restarted after surgery. *Journal of Internal Medicine*, 263 (5), 412 - 419.

Garcia, D., Regan, S., Crowther, M., Hughes, R. A., & Hylek, E. M. (2005). Warfarin Maintenance Dosing Patterns in Clinical Practice: Implications for Safer Anticoagulation in the Elderly Population. *Chest*, 127, 2049 – 2056.

Kulkarni, U. P., Swar, B. D., Karnad, D. R., Davis, S., Patwardhan, A. M., Kshirsagar, N. A., & Gogtay, N. J. (2008). A pilot study of the association of pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of warfarin with the dose inpatients on long-term anticoagulation. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 65 (5), 787 - 790.

Campbell, P., Roberts, G., Eaton, V., Coghlan, D., & Gallus, A. (2001). Managing warfarin therapy in the community. *Australian prescriber*, 24 (4), 86 - 89.

Cromheecke, M. E., Levi, M., Colly, L. P., De Mol, B. J. M., Prins, M. H., Hutten, B. A., Mak, R., Keyzers, K. C. J., & Büller, H. R. (2000). Oral anticoagulation self-management and management by a specialist anticoagulation clinic: a randomised cross-over comparison. *Lancet*, 356 (9224), 97 – 102.

Grasso-Correnti, N., Goldszer, R. C., & Goldhaber, S. Z. (2003). The Critical Pathways of an Anticoagulation Service. *Critical Pathways in Cardiology*, 2 (1), 41 – 45.

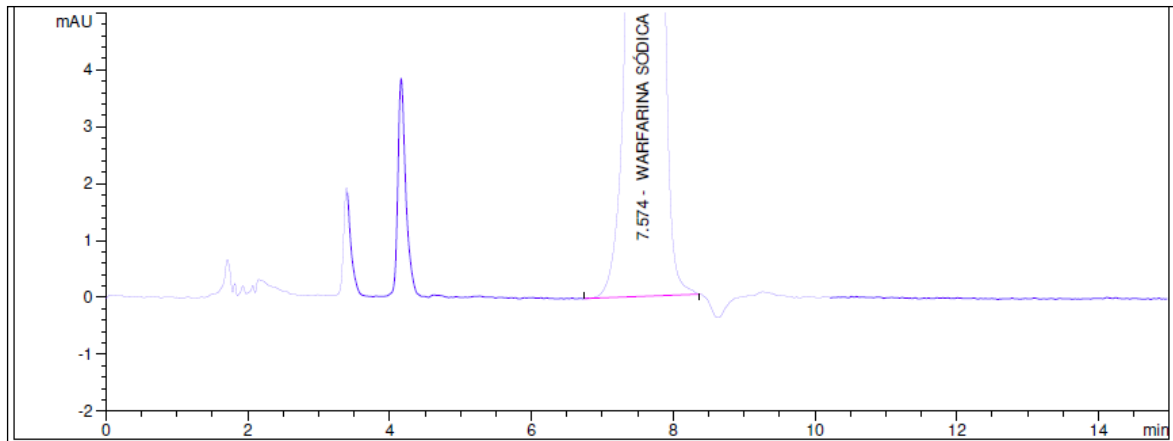
Stafford, L., Peterson, G. M., Bereznicki, L. R., & Jackson, S. L. (2011). A role for pharmacists in community-based postdischarge warfarin management: protocol for the 'the role of community pharmacy in post hospital management of patients initiated on warfarin' study. *Health Services Research*, 11 (16), 1 - 11.

Connors, K. A., Amidon G. L., & Stella, V. J. (1986). *Chemical Stability of Pharmaceuticals: A handbook for pharmacists*. Second edition. John Wiley & Sons., Inc.

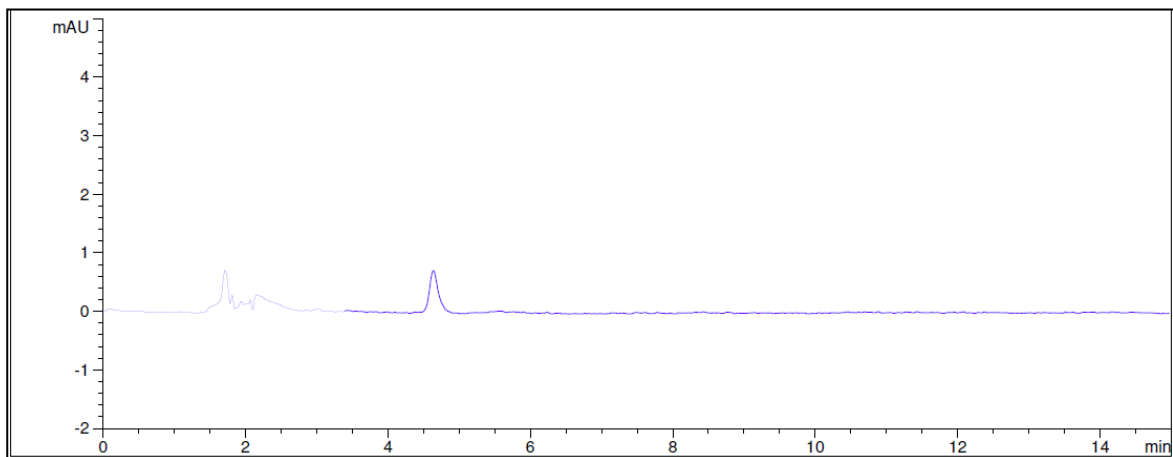
INVIMA. (2012, 16 de mayo) Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. [Listado Código Único de Medicamentos Vigentes]. Consultado el día 6 de junio de 2012 de la World Wide Web: <http://web.invima.gov.co/portal/faces/index.jsp?id=54263>

## Anexos

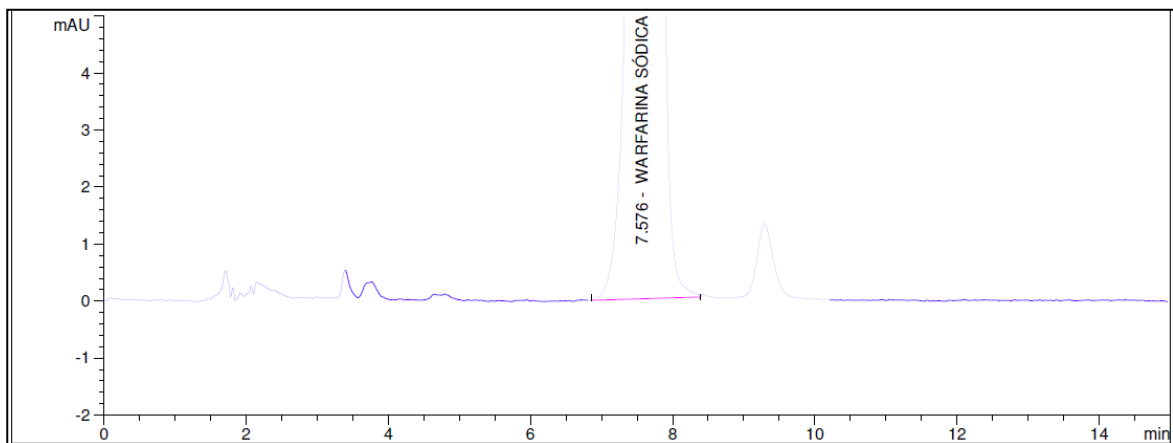
### Anexo 1. Cromatograma correspondiente a la hidrólisis ácida



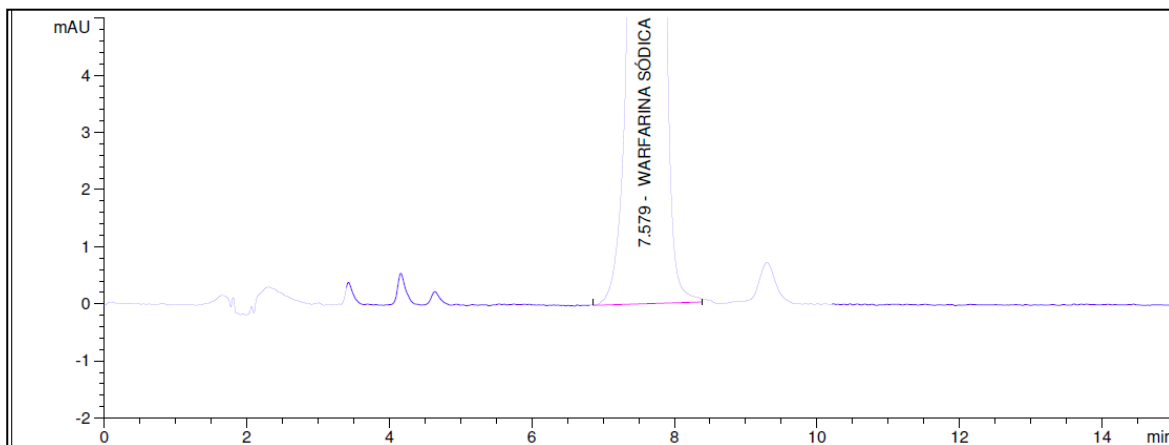
### Anexo 2. Cromatograma correspondiente a la hidrólisis básica (blanco)



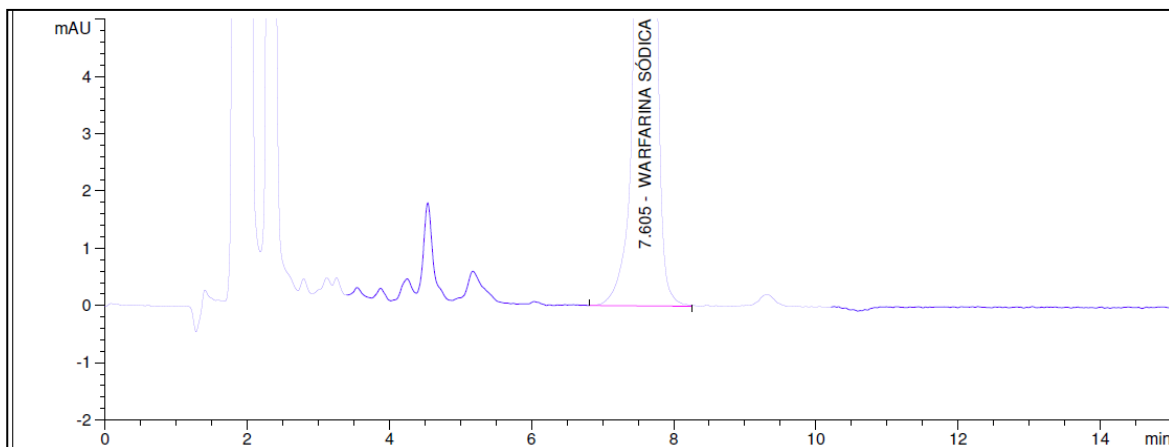
### Anexo 3. Cromatograma correspondiente a la hidrólisis básica



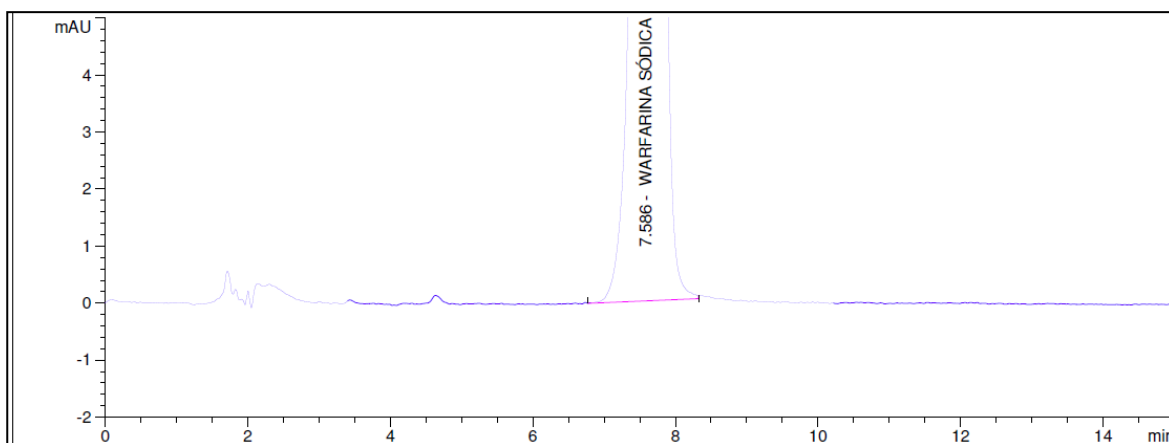
**Anexo 4.** Cromatograma correspondiente al efecto del calor



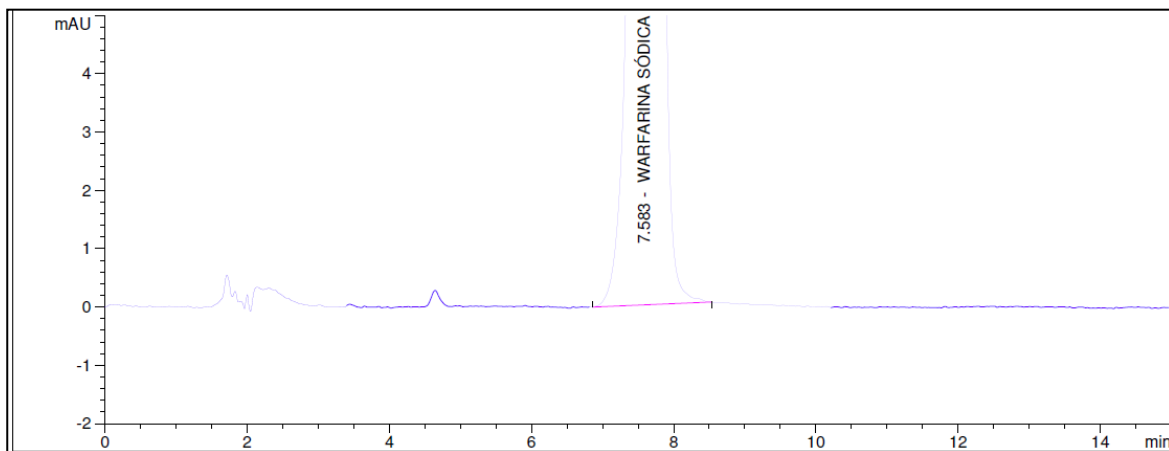
**Anexo 5.** Cromatograma correspondiente a la oxidación



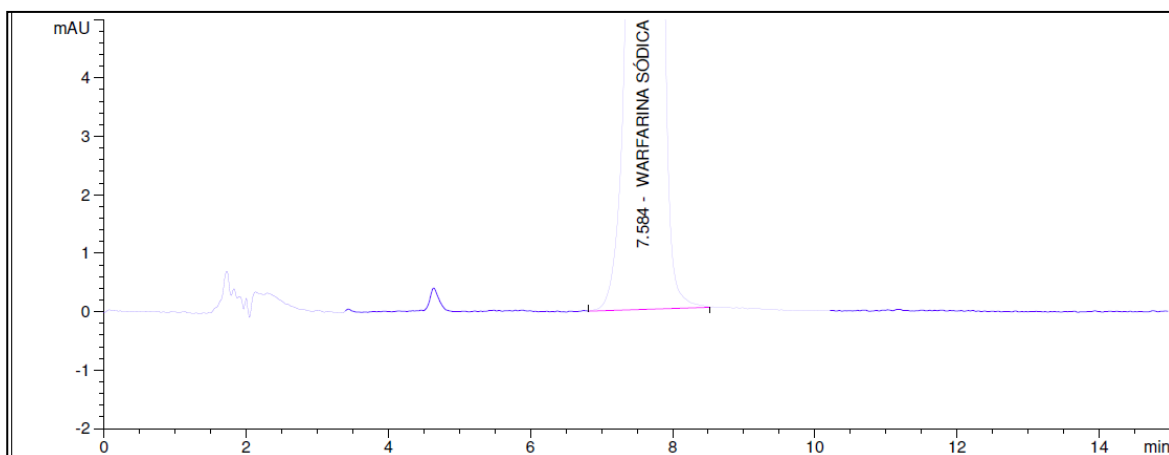
**Anexo 6.** Cromatograma correspondiente a la fotólisis por exposición a la luz solar directa



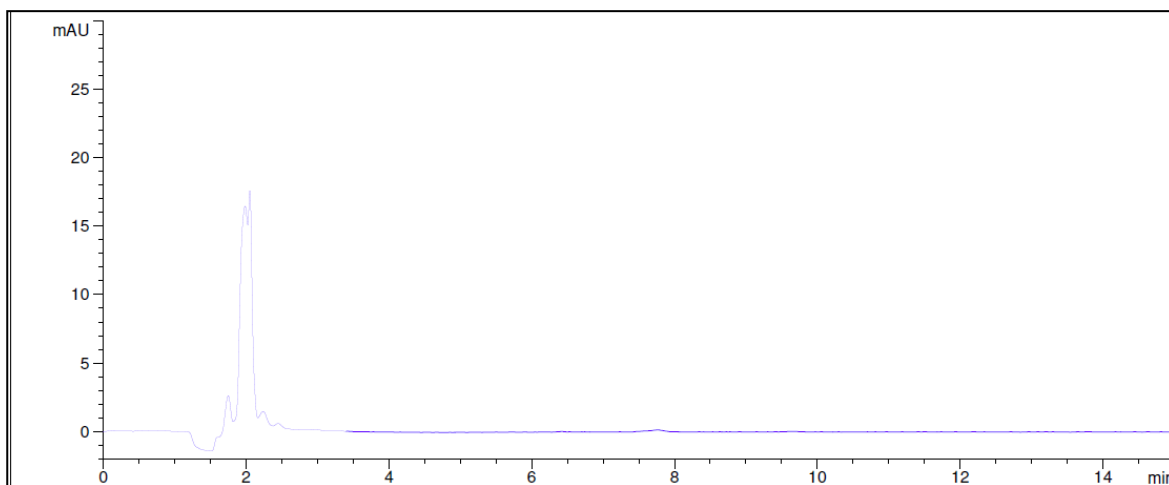
**Anexo 7.** Cromatograma correspondiente a la fotólisis por exposición a la luz UV a 254 nm



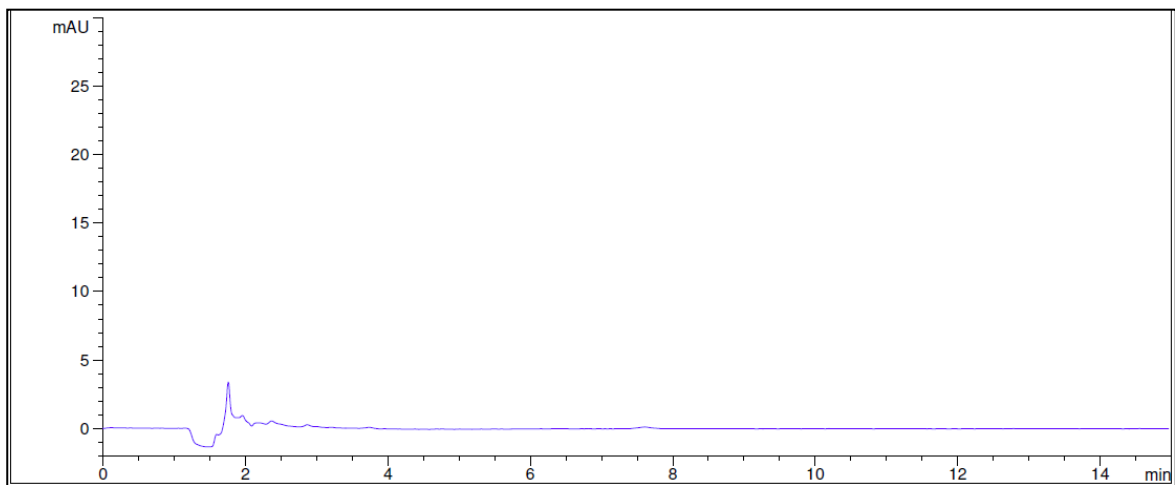
**Anexo 8.** Cromatograma correspondiente a la fotólisis por exposición a la luz UV a 366 nm



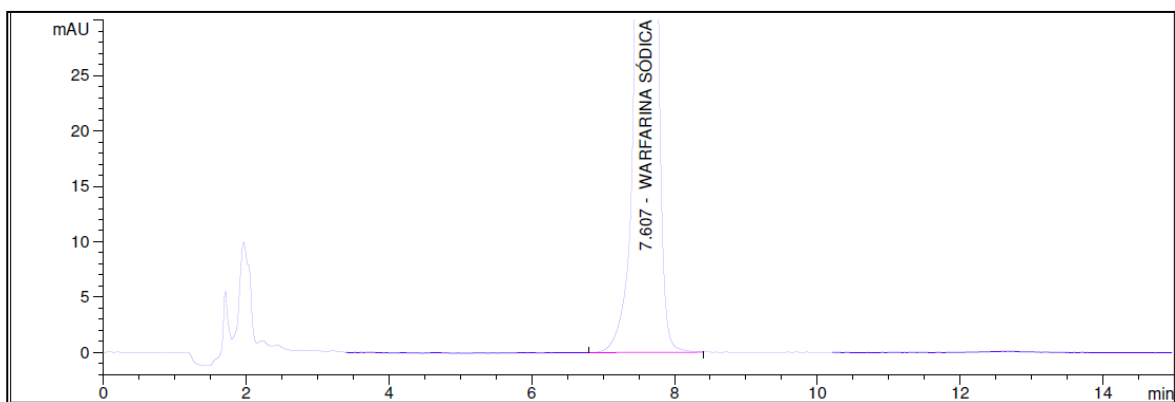
**Anexo 9.** Cromatograma correspondiente al blanco Dextrosa al 5%



**Anexo 10.** Cromatograma correspondiente al blanco NaCl al 0.9%



**Anexo 11.** Cromatograma correspondiente a la selectividad frente a todos los excipientes



**Anexo 12.** Preparación de la suspensión en los envases transparente y ámbar en NaCl 0.9%



**Anexo 13.** Preparación de la suspensión en el envase transparente en Dextrosa 5.0%



**Anexo 14.** Muestras a 40°C y 336 h (3 primeras NaCl 0.9% y tres últimas Dextrosa 5.0%)



**Anexo 15.** Muestras a 30°C y 336 h (3 primeras NaCl 0.9% y tres últimas Dextrosa 5.0%)



**Anexo 16.** Muestras a 5°C y 336 h (3 primeras NaCl 0.9% y tres últimas Dextrosa 5.0%)



**Anexo 17.** Modelo de etiqueta para una forma farmacéutica extemporánea a partir de tabletas de warfarina sódica.

**WARFARINA SÓDICA 5mg/10mL.**

**Administración por vía peroral.**

**Agitar vigorosamente 20 segundos antes de usar. Almacenar a \_\_\_\_\_ °C.**

**Proteger de la luz. Mantener bien cerrado y fuera del alcance de los niños.**

**Fecha de elaboración: \_\_\_\_\_ . Hora: \_\_\_\_\_ .**

**Fecha de Vencimiento: \_\_\_\_\_ . Hora: \_\_\_\_\_ .**

**Lote No.: \_\_\_\_\_ . Firma del responsable: \_\_\_\_\_ .**