



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO. División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Formato SS-T

SOLICITUD DE TÉRMINO DE SERVICIO SOCIAL

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

Datos del Alumno

Nombre : Luis Daniel Mazón Román	
Matrícula : 2152032107	Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica <input type="checkbox"/>
Domicilio : Andador 11 Elvira Vargas, CTM Culhuacan IX-A, Delegación Coyoacan	
Teléfono : 7333330089	Celular : 7331062260
Correo Electrónico : daniel.mazon99@gmail.com	CURP : MARL960417HGRZMS09

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto : Determinación de perfiles de disolución de Warfarina en tabletas utilizando los aparatos 2 y 4 USP	
Lugar donde se realizó el Servicio Social : Laboratorio N-102 y N-002 de la UIDS, UAM-Xochimilco	
Dependencia : Universidad Autonoma Metropolitana-Xochimilco	
Entidad Federativa : Distrito Federal	
Municipio : Coyoacán	Localidad : Villa quietud
Fecha de Inicio	Fecha de Término
Día 1 Mes 2 Año 19	Día 1 Mes 8 Año 19

PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: 3.- Público Tipo: 2.- Interno

Orientación: 8.- Salud, Alimentación Y Nutrición

FIRMAS

José Raúl Medina López
José Raúl Medina López No. Ec. 23981

Asesor Interno
Nombre, firma y No. Económico

Luis Daniel Mazón Román
Luis Daniel Mazón Román
Alumno
Nombre firma

Juan Carlos Ruiz Segura
Juan Carlos Ruiz Segura No. Ec. 40112

Asesor Externo
Nombre, firma y No. Económico

Mario González Torres
Mario González Torres
Vo. Bo. de la Comisión
Nombre y firma de la persona que autoriza



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Ciudad de México a 21 de septiembre de 2020.

Dr. Juan Esteban Barranco Florido

Jefe del Departamento Sistemas Biológicos


P R E S E N T E

Por medio de la presente nos permitimos comunicar a usted que el alumno **Luis Daniel Mazón Román** con matrícula: **2152032107**, cumplió su Servicio Social del **1 de febrero** al **1 de agosto de 2019**, trabajando en el proyecto: **"Determinación de perfiles de disolución de warfarina en tabletas utilizando los aparatos 2 y 4 USP"**, cubriendo un total de **480** horas.

A T E N T A M E N T E



M. en C. José Raúl Medina López



Dr. Juan Carlos Ruiz Segura

c.c.p. Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de CBS.

UNIDAD XOCHIMILCO

Calz. del Hueso 1100 Col. Villa Quietud Deleg. Coyoacán CP 04960 México DF, Tel. 5483-7000 ext. 3445.

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Informe de actividades del Servicio Social: Determinación de perfiles de disolución de Warfarina en tabletas utilizando los Aparatos 2 y 4 USP

Proyecto genérico correspondiente a: Evaluación de productos relacionados con la salud.

Alumno: Luis Daniel Mazón Román **Matricula:** 2152032107

Asesores: M. en C. José Raúl Medina López M
Dr. Juan Carlos Ruiz Segura

Lugar de realización: Laboratorio de Farmacocinética y Farmacodinamia N-102, UAM-X.

Fecha de inicio del proyecto: 1 de febrero de 2019

Fecha de término del proyecto: 1 de agosto de 2019

Septiembre 2020

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1. Generalidades de la Warfarina.....	7
2.2. Propiedades fisicoquímicas de la Warfarina	7
2.3. Farmacocinética, Farmacodinámica y Posología de la Warfarina	8
2.4. Fármacos anticoagulantes	9
2.5. Perfiles de disolución	9
2.6. Medicamentos genéricos	10
3. OBJETIVOS.....	11
3.1. General.....	11
3.2. Específicos	11
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL	12
4.1. Material, reactivos y equipo	12
4.1.1. Material	12
4.1.2. Reactivos	12
4.1.3. Equipo.....	12
4.2. Curvas de calibración	12
4.3. Validación del fármaco	13
4.3.1. Linealidad	13
4.3.2. Precisión.....	13
4.4. Validación del medicamento	14
4.4.1. Exactitud y precisión.....	14
4.5. Disolución del fármaco	14
4.6. Estabilidad del fármaco	15
4.7. Prueba de filtro al fármaco	16
4.8. Perfiles de disolución	16
4.8.1. Aparato 2 USP	16
4.8.2. Aparato 4 USP	17
4.8.3. Análisis de los datos	17
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
5.1. Validación con el fármaco	18
5.1.1. Linealidad	18
5.1.2. Precisión.....	20

5.2. Validación del medicamento	20
5.2.1. Precisión y exactitud	20
5.3. Disolución del fármaco	21
5.4. Prueba de estabilidad	22
5.5. Prueba de filtro	22
5.6. Perfiles de disolución	23
5.6.1. Aparato 2 USP	23
5.6.2. Aparato 4 USP	25
5.6.3 Análisis de datos	27
6. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS	30
7. CONCLUSIONES	31
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
9. RESUMEN	36

1. INTRODUCCIÓN

Los anticoagulantes son medicamentos que previenen la formación de coágulos sanguíneos. También evitan que los coágulos de sangre ya existentes se hagan más grandes. Los coágulos en las arterias, las venas y el corazón pueden causar ataques al corazón, derrames cerebrales y bloqueos. La Warfarina también es conocida como medicamento “anticoagulante” o “diluyente de la sangre”, impide la formación de coágulos en la sangre, o bien, que los coágulos ya formados aumenten su tamaño. Esto se debe a que la Warfarina impide la formación de los factores activos de la coagulación II, VII, IX y X en el hígado, mediante la inhibición de la gamma carboxilación de las proteínas precursoras mediada por la vitamina K. Este medicamento es administrado en pacientes con valvulopatías o síndrome coronario agudo, por lo que su empleo requiere de ciertas precauciones.

En este trabajo se realizó el estudio sobre la evaluación de la velocidad de disolución, así como el grado de liberación del fármaco de medicamentos comerciales de Warfarina. Se analizaron las tabletas del medicamento COUMADIN® siguiendo las específicas de la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013 para la validación de la disolución del fármaco. Se realizaron los perfiles de disolución en el aparato 2 USP siguiendo el procedimiento oficial de la FDA (Food and Drug Administration), quien es responsable de proteger la salud pública mediante la regulación de los medicamentos de uso humano en los Estados Unidos de América. Con la finalidad de observar y comparar la velocidad de disolución del fármaco en distintas condiciones, se realizó un procedimiento no oficial utilizando el aparato 4 USP empleando distintos medios de disolución para el fármaco.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Generalidades de la Warfarina

La Warfarina sódica es un fármaco que evita la formación de coágulos en la sangre, es conocida como un anticoagulante o un “diluyente de la sangre”, aunque en realidad no se encarga de la dilución de la sangre. La Warfarina no disuelve los coágulos que ya se han formado, sino que evita la formación de nuevos coágulos o bien, que los coágulos existentes se agranden y causen problemas más graves. Por lo tanto, se utiliza para prevenir o tratar la coagulación dañina relacionada con algunas afecciones de los vasos sanguíneos, corazón y pulmones (Fig. 1).^(1,2)

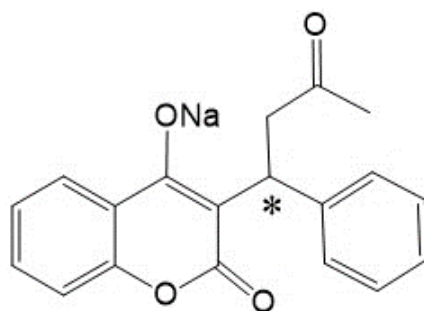


Figura 1. Estructura química de la Warfarina sódica.⁽³⁾

2.2. Propiedades fisicoquímicas de la Warfarina

Nombre IUPAC sistemático: sal sódica 4-hidroxi-3-(3-oxo-1-fenilbutil)-2H-1-benzopirán-2-ona.

Formula química: C₁₉H₁₅NaO₄

Masa molecular: 330.31 g/mol

Punto de fusión: 134°C

Descripción: Polvo blanco. Se descompone con la luz.

Solubilidad: Muy soluble en agua y en etanol; muy poco soluble en éter di etílico y en cloroformo.

Conservación: En envases bien cerrados y que eviten el paso de la luz.⁽⁴⁾

Formas farmacéuticas: Comprimidos de 1, 2.5, 5 y 10 mg.⁽⁵⁾

2.3. Farmacocinética, Farmacodinámica y Posología de la Warfarina

Siendo un derivado sintético de la cumarina con propiedades anticoagulantes; interfiere en la síntesis hepática de la vitamina K, la cual es necesaria para la síntesis completa de los factores de la coagulación II, VII, IX y X. La Warfarina produce su efecto anticoagulante por la inhibición de la epóxido reductasa de la vitamina K, la enzima que cataliza el paso de la vitamina K oxidada a su forma reducida. La vitamina K reducida induce la carboxilación de los residuos de glutamato de los factores II (protrombina), VII (proconvertina), IX (Christmas) y X (Stuart) de la cascada de la coagulación. El bloqueo de esta carboxilación da por resultado moléculas incompletas que son biológicamente inactivas en la coagulación. Su efecto no es inmediato como el de la heparina, ya que depende de la disminución progresiva de los factores de la coagulación. No tiene efecto trombolítico, pero reduce la extensión de los trombos ya formados. Se absorbe rápida y completamente después de su administración oral y tiene una biodisponibilidad excelente. ^(6,7)

El efecto anticoagulante inicia de 8 a 10 h después de su administración; el efecto máximo se alcanza en 72 a 96 h. La duración del efecto de una sola dosis de Warfarina es de dos a cinco días. Se une de manera amplia a las proteínas plasmáticas. Se metaboliza en el hígado y se excreta, junto con sus metabolitos, principalmente en la bilis. Su vida media de eliminación es de 20 a 89 h para el enantiómero R y de 18 a 43 h para el enantiómero S (Fig. 2). Cruza con facilidad la barrera placentaria. ⁽⁶⁾

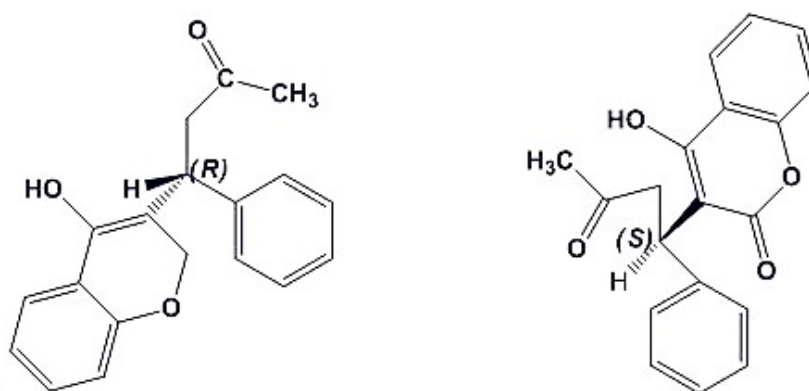


Figura 2. Enantiómero R (izquierda) y S (derecha) de la Warfarina. ⁽³⁾

2.4. Fármacos anticoagulantes

Los fármacos anticoagulantes buscan prevenir la formación de coágulos sanguíneos, o bien, evitar que los coágulos de sangre ya existente adquieran un mayor tamaño. Un fármaco anticoagulante ideal evitaría la trombosis patológica y limitaría la lesión reperfusión, permitiendo una respuesta normal a la lesión vascular y limitando la hemorragia. En teoría, esto podría lograrse por conservación de la fase de inicio TF-VIIa del mecanismo de coagulación con atenuación de la fase de propagación del desarrollo del coagulo de la vía intrínseca secundaria. En la actualidad, no existe un fármaco con tal capacidad, ya que todos los anticoagulantes y fibrinolíticos conllevan un mayor riesgo de hemorragia como su principal toxicidad. ^(8,9)

2.5. Perfiles de disolución

El proceso de absorción de un fármaco contenido en una forma farmacéutica sólida, después de la administración oral depende, entre otros aspectos, de la liberación del principio activo del producto y de su disolución o solubilización en las condiciones fisiológicas. Debido a la naturaleza de estos factores, la evaluación de la velocidad de disolución *in vitro* puede ser una predicción del comportamiento *in vivo*, siempre y cuando el paso limitante para la absorción sea la disolución. ⁽⁶⁾

Las pruebas de disolución farmacopeicas son pruebas límite puntuales, éstas únicamente evalúan la cantidad de principio activo disuelto en un tiempo determinado y el criterio de aceptación es útil para el control de calidad del medicamento, pero no proporcionan información de la velocidad a la cual el fármaco se disuelve. Por otro lado, un perfil de disolución cuantifica la cantidad de fármaco disuelto en distintos intervalos de tiempo. ^(6,10)

Para realizar el perfil de disolución, deben seleccionarse por lo menos cinco tiempos de muestreo (excepto el tiempo cero) que permitan caracterizar apropiadamente la curva ascendente y la fase de meseta. Únicamente dos puntos estarán en la meseta de la curva y los otros tres distribuidos entre la fase ascendente y de inflexión. Cuando el 85% del fármaco se disuelve en un tiempo menor o igual a 15 minutos, no es necesario caracterizar la curva ascendente,

pero los tiempos de muestreo deben estar suficientemente espaciados a lo largo del perfil de disolución. ⁽¹¹⁾

2.6. Medicamentos genéricos

Un fármaco se define por la legislación americana como cualquier sustancia química que se utiliza para el diagnóstico, el tratamiento, la curación o la prevención de una enfermedad, o para tratar afecciones que repercutan en la estructura o el funcionamiento del organismo. ⁽¹²⁾

Podemos encontrar a los fármacos dentro de la formulación de una gran variedad de medicamentos, en los que se pueden destacar a los medicamentos de patente o de marca, principalmente, y a los medicamentos genéricos. Un medicamento genérico es un medicamento creado para ser igual a un medicamento de marca ya comercializado en cuanto a su dosificación, seguridad, potencia, vía de administración, calidad, características de rendimiento y uso previsto. Estas similitudes ayudan a demostrar la bioequivalencia, lo que significa que un medicamento genérico funciona de la misma manera y proporciona el mismo beneficio clínico que su versión de marca. En otras palabras, es posible sustituir su medicamento de marca con un medicamento genérico. ⁽¹³⁾

3. OBJETIVOS

3.1. General

Determinar los perfiles de disolución de Warfarina en tabletas utilizando los Aparatos 2 y 4 USP.

3.2. Específicos

- Validar el método de disolución como lo indica la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013.
- Determinar los perfiles de disolución de Warfarina en tabletas a partir de al menos el medicamento de referencia utilizando los Aparatos 2 y 4 USP.
- Realizar los perfiles de disolución de Warfarina en distintas disoluciones: agua destilada, HCl 0.1 N, solución amortiguadora de fosfatos con pH de 6.8 y 4.5.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1. Material, reactivos y equipo

4.1.1. Material

- Agitador magnético
- Espátulas de acero inoxidable
- Jeringas de 5 ml
- Matraces volumétricos de 5, 10, 15, 20, 25 y 50 ml
- Micropipeta de 0.1 a 1 ml
- Pipeta
- Pipetas Pasteur
- Probeta de 1L
- Vasos de precipitados de 5, 10, 50, 100, 250, 500 y 1000 ml

4.1.2. Reactivos

- Ácido clorhídrico
- Agua destilada
- Acetona
- Estándar de Warfarina
- Metanol
- Hidróxido de sodio
- Fosfato monobásico de potasio, grado reactivo

4.1.3. Equipo

- Balanza analítica Mettler AE 163
- Balanza granataria Havard Trip Ohaus
- Disolutor USP Sotax Type CE-6 CH-4123
- Disolutor USP SotaxAT - 7 Smart con bomba de pistón Sotax CY7-50
- Espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer Lambda 2S

4.2. Curvas de calibración

Para trabajar con las tabletas de Warfarina; se elaboró una solución con 5 mg de estándar de Warfarina y se agregaron a un matraz volumétrico de 5 ml, se añadieron 2 ml de agua destilada y se llevó al sonicador durante 2 minutos para

una fácil disolución, posteriormente se aforó con agua destilada. Con una micropipeta, se tomó una alícuota de 200 µg y se aforo a un matraz volumétrico de 10 ml. De ese matraz, se tomó una alícuota de 5 ml y se aforó en un matraz de 10 ml. Este mismo proceso se repitió 3 veces para obtener concentraciones de 1.25, 2.5, 5, 10 y 20 µg/ml. Posteriormente se determinó su absorbancia a una longitud de onda de 308 nm con celdas de cuarzo de 1 cm.

Con la finalidad de observar el comportamiento del fármaco en distintas condiciones; se realizaron otras curvas de calibración utilizando este mismo procedimiento con un cambio en el medio de disolución (Cuadro 1), para posteriormente ser utilizadas en los perfiles de disolución.

Cuadro 1. Medios de disolución para las curvas de calibración

- Agua destilada.
- Solución amortiguadora (SA) de fosfatos pH 6.8.
- SA de fosfatos pH 4.5.
- HCl 0.1 N.

4.3. Validación del fármaco

4.3.1. Linealidad

Se realizaron 5 curvas de calibración del fármaco (Warfarina) en agua destilada con concentraciones de 1.25, 2.5, 5, 10 y 20 µg/ml. Se determinaron los espectros de absorción a una longitud de onda de 308 nm en celdas de cuarzo de 1 cm. Con los datos obtenidos se calculó la pendiente (b), coeficiente de variación (r), coeficiente de determinación (r^2), así como el %CV.

Parámetros de referencia: El valor de r y r^2 debe ser igual o mayor a 0.999. El %CV igual o menor a 3 para ser aceptable.

4.3.2. Precisión

Una vez obtenidos los datos de linealidad se realizó el cálculo de %CV con los valores de factor respuesta.

Para calcular los valores de factor respuesta se utilizó la siguiente fórmula en cada uno de los datos:

$$\text{Factor respuesta} = \frac{\text{Absorbancia}}{\text{Concentración}}$$

Parámetros de referencia: %CV igual o menor a 3 para ser aceptable.

4.4. Validación del medicamento

La validación del método se llevó a cabo con el medicamento COUMADIN® de 5 mg. El procedimiento fue realizado en el aparato 2 USP a 75 RPM durante 35 min.

Para ello se calculó el peso promedio de 10 tabletas para luego ser molidas con la ayuda de un mortero. Se calculó el peso equivalente al 50, 100 y 150% de la dosis del medicamento. Estos porcentajes de molido se agregaron a los vasos de disolución que contenían 900 ml de agua destilada a 37°C. Se tomó una muestra a los 35 min y se midió su absorbancia a una longitud de onda de 308 nm para determinar la cantidad de fármaco disuelto en la solución.

Cada uno de los porcentajes de molido se evaluó en tres vasos de disolución (n=3) en tres días (n=9).

4.4.1. Exactitud y precisión

Una vez obtenidos los datos de la linealidad se realizó el cálculo de %CV del porcentaje de fármaco disuelto, el valor obtenido nos indica la precisión del método. Para calcular la exactitud, se realizó el cálculo del error relativo (ER). El valor de ER se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{ER} = \frac{\text{Cantidad disuelta} - \text{Cantidad agregada}}{\text{Cantidad agregada}} \times 100$$

Parámetros de referencia: El valor de %CV debe ser igual o menor al 2%. El ER no debe ser mayor al 3%.

4.5. Disolución del fármaco

Con la finalidad de evaluar la disolución del medicamento, se realizaron pruebas de disolución a 50, 75 y 100 RPM utilizando canastillas y paletas (Tabla 1).

Para ello se preparó una curva de calibración de Warfarina (1.25-20 µg/ml) en agua destilada, y se utilizaron las siguientes condiciones: temperatura 37°C ± 0.5°C con 900 ml de agua destilada (Tabla 1). Los tiempos de muestreo fueron cada 5 minutos durante 60 minutos.

Tabla 1. Condiciones del equipo y del medio utilizado en las pruebas de disolución.

Condiciones del equipo	Condiciones del medio
Canastilla – 50 RPM	<ul style="list-style-type: none">• 900 ml agua destilada• Temperatura 37°C
Canastilla – 75 RPM	
Canastilla – 100 RPM	
Paletas – 50 RPM	
Paletas – 75 RPM	
Paletas – 100 RPM	

Se analizaron 6 tabletas para cada una de las condiciones y se obtuvo su absorbancia a una longitud de onda de 308 nm. Una vez obtenidos los datos, se calculó el porcentaje de disolución en el último tiempo, el tiempo medio de disolución (TMD) y el porcentaje de eficiencia de la disolución (ED) de cada una de las pruebas.

4.6. Estabilidad del fármaco

Se elaboraron dos soluciones de 200 ml con concentración de 5 µg/ml de fármaco en agua destilada. Una de las soluciones se almacenó a refrigeración de 4°C y la otra se mantuvo a temperatura ambiente. Se analizó una muestra por triplicado de cada una de las dos soluciones a las 0, 24, 48 y 72 h transcurridas, se obtuvo su absorbancia a una longitud de onda de 308 nm y posteriormente, se realizó el cálculo de diferencia absoluta (DA). Los valores de DA se calcularon utilizando la siguiente fórmula:

$$DA = \frac{\text{Media del valor obtenido} - \text{Media del valor normal}}{\text{Media del valor normal}} \times 100$$

Parámetros de referencia: DA menor al 3% para que la muestra sea considerada estable.

4.7. Prueba de filtro al fármaco

Para valorar el grado de adherencia del fármaco al filtro, se realizaron pruebas en tres diferentes tipos de filtro: fibra de vidrio, nitrocelulosa y papel filtro de derivados de celulosa.

Se preparó una solución de 1 mg/ml del fármaco en agua destilada, se tomó una alícuota de 1 ml y se aforó en un matraz de 200 ml con agua destilada. De esta disolución, se tomaron 8 muestras y se obtuvo su absorbancia de cada una de ellas a una longitud de onda de 308 nm. Posteriormente, haciendo uso de soportes de filtro Millipore, se obtuvieron lecturas de 8 muestras para cada uno de los filtros a una longitud de onda de 308 nm utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. Tras obtener los datos, se calculó la DA para las muestras de cada uno de los filtros.

4.8. Perfiles de disolución

4.8.1. Aparato 2 USP

Los perfiles de disolución se realizaron con 2 distintos medios de disolución: agua destilada y S.A. de fosfatos pH 6.8 8 (una de las 3 pruebas establecidas por la FDA, además de ser el valor de pH más parecido al del agua; pH 7). Se preparó una curva de calibración de Warfarina (1.25-20 µg/ml) en cada uno de los medios de disolución. Los tiempos de muestreo fueron cada 5 minutos durante 60 minutos. Las condiciones del equipo fueron: temperatura 37°C ± 0.5 °C con 900 ml del medio (agua destilada y SA de fosfatos pH 6.8) a 75 RPM con paletas.

Se analizaron 12 tabletas por cada uno de los medios de disolución y se obtuvo su absorbancia a una longitud de onda de 308 nm.

Parámetros de referencia: 80% de fármaco disuelto a los 30 minutos.

4.8.2. Aparato 4 USP

Los perfiles de disolución se realizaron con 4 distintos medios de disolución: agua destilada, SA fosfatos pH 6.8 (una de las 3 pruebas establecidas por la FDA, además de ser el valor de pH más parecido al del agua; pH 7), SA de fosfatos pH 4.5 y HCl 0.1 N.

Para ello se preparó una curva de calibración de Warfarina (1.25-20 µg/ml) en cada uno de los medios de disolución. Los tiempos de muestreo fueron cada 5 minutos durante 60 minutos.

Se analizaron 12 tabletas por cada uno de los medios de disolución y se obtuvo su absorbancia a una longitud de onda de 308 nm.

4.8.3. Análisis de los datos

Una vez obtenidos todos los datos de los aparatos 2 USP y 4 USP, se realizó el cálculo de TMD Y ED para cada perfil. Además, se realizaron los cálculos de los modelos cinéticos para identificar cual era el modelo al que se ajustaba el producto. Los modelos cinéticos empleados fueron: Gompertz, Higuchi, Hixson-Crowler, Korsmeyer-Peppas, Logístico, Orden cero, 1^{er} orden, Weibull 1 y 4. Los cálculos fueron obtenidos utilizando la herramienta estadística DDSolver.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Validación con el fármaco

5.1.1. Linealidad

La tabla 2 se muestran los valores de las seis curvas de calibración realizadas para el fármaco de Warfarina en solución acuosa. En ellas se pueden observar b, r y r² de cada una de las curvas, así como el promedio de las cinco. En la figura 3 se puede observar la linealidad del sistema.

Tabla 2. Curvas de calibración de Warfarina en agua destilada

Concentración (µg/ml)	Absorbancia					Promedio
	curva 1	curva 2	curva 3	curva 4	curva 5	
1.275	0.075	0.076	0.074	0.074	0.076	0.075
2.55	0.151	0.151	0.147	0.149	0.152	0.150
5.1	0.303	0.301	0.298	0.301	0.304	0.301
10.2	0.605	0.602	0.594	0.595	0.602	0.600
20.4	1.232	1.190	1.198	1.193	1.211	1.205
Pendiente	0.060	0.058	0.059	0.058	0.059	0.059
r	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
r²	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999

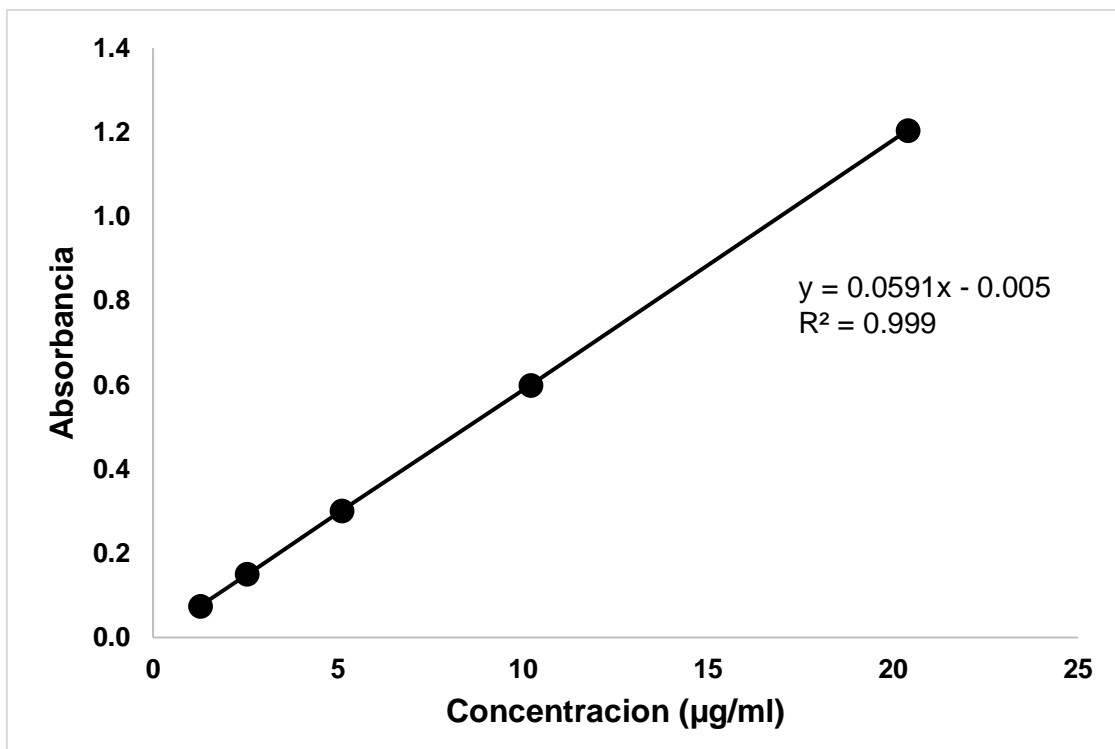


Figura 3. Linealidad del sistema. Media, n =25.

La tabla 3 muestra la ecuación de la recta de los distintos medios de disolución utilizados en los perfiles de disolución.

Tabla 3. Ecuación de la recta de cada medio de disolución.

Medio de disolución	Ecuación de la recta
Agua destilada	$y = 0.0591x - 5.8 \times 10^{-3}$
SA de fosfatos pH 6.8	$y = 0.0594x - 3.24 \times 10^{-3}$
SA de fosfatos pH 4.5	$Y = 0.0424x - 4.16 \times 10^{-4}$
HCl 0.1 N	$Y = 0.0370x - 2.91 \times 10^{-4}$

5.1.2. Precisión

El cuadro 2 muestra el valor de %CV obtenido del factor respuesta utilizando los datos de la linealidad del fármaco. Se observa que el valor calculado es menor al 3%, por lo que se mantiene dentro del valor de referencia.

Cuadro 2. Precisión del fármaco, Warfarina (n=25)

Factor respuesta de curvas de calibración de Warfarina: %CV = 1.09
--

5.2. Validación del medicamento

5.2.1. Precisión y exactitud

La tabla 4 muestra los valores obtenidos de %CV y ER para cada una de las distintas dosis de fármaco evaluadas (50,100 y 150 %) por día y durante los 3 días.

Tabla 4. Valores de %CV y %ER del medicamento.

Agregado (mg)	Intra-día (n=3)			Inter-día (n=9)		
	Disuelto (mg)	CV (%)	ER (%)	Disuelto (mg)	CV (%)	ER (%)
2.5	1.80	1.11	-27.98	1.82	4.08	-27.15
5	3.69	0.53	-26.23	3.71	1.78	-25.88
7.5	5.64	0.26	-24.75	5.52	5.13	-26.41

Al comparar los valores obtenidos de %CV con los parámetros de referencia; los datos nos muestran que los tres valores de %CV Intra-día cumplen con el valor de referencia (CV < 2%), por lo tanto, son valores precisos. Sin embargo, los datos obtenidos de %CV Inter-día, solamente el valor de 5 mg agregados se

encuentra dentro del valor de referencia, mientras que los valores para 2.5 y 7.5 mg agregados superan el valor de referencia ya establecido. Los datos obtenidos por día son precisos, pero no lo son en los tres distintos días.

Los valores obtenidos para ER nos indican que ninguno de los datos se encuentra dentro del valor de referencia ($ER < 3\%$), por lo que, ninguno de los datos obtenidos se puede considerar exacto. Desarrollar una metodología más apropiada para el fármaco podría proporcionar mejores resultados para la linealidad del medicamento.

5.3. Disolución del fármaco

Tras realizar las pruebas de disolución a distintas RPM, los datos del porcentaje disuelto a los 60 min, TMD y ED se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Pruebas de disolución a distintas RPM para Warfarina.

Agitación (RPM)	Parámetros	USP Canastilla	USP Paletas
50	Disolución a los 60 min (%)	73.55	72.03
	ED (%)	51.61	54.64
	TMD (%)	17.90	14.48
75	Disolución a los 60 min (%)	72.83	73.25
	ED (%)	53.90	58.17
	TMD (%)	15.60	12.35
100	Disolución a los 60 min (%)	74.70	75.79
	ED (%)	58.04	58.46
	TMD (%)	13.38	13.72

Los resultados nos muestran que el valor mayor para ED se obtuvo a una agitación de 100 RPM tanto en canastilla y paletas. Por otro lado, el valor más bajo para MDT se obtuvo a una agitación de 100 RPM para canastilla y 75 RPM

para paletas. Con estos resultados se entiende que el fármaco tiene una mayor velocidad de disolución a un mayor número de RPM.

5.4. Prueba de estabilidad

La tabla 6 muestra los resultados obtenidos al realizar el cálculo de DA para el fármaco Warfarina, los cuales se emplearon para evaluar la estabilidad del fármaco en solución a una temperatura ambiente y 4°C.

Tabla 6. Valores de DA obtenidos en la prueba de estabilidad a diferentes tiempos y temperatura.

Fármaco	Concentración	Temperatura ambiente			4°C		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Warfarina	5 µg/ml	0.71	1.55	4.32	0.38	0.50	0.84

Al realizar el análisis de datos se observa que, al exponer el fármaco a una temperatura ambiente muestra un mayor cambio en su estabilidad al ser comparados con los que fueron puestos a una temperatura de 4°C. Por lo que, el fármaco no es estable a temperatura ambiente, y debe mantenerse en refrigeración.

5.5. Prueba de filtro

La tabla 7 muestra los resultados obtenidos al realizar el cálculo de DA para identificar y seleccionar el filtro más apto para el fármaco.

Tabla 7. Valores de DA obtenidos en la prueba de filtro

Filtro	DA (%)
Sin filtro	-
Papel filtro	13.24
Nitrocelulosa	2.66
Fibra de vidrio	6.73

Los datos obtenidos nos indican que el filtro de Nitrocelulosa mostro una menor retención del fármaco, por lo que fue el filtro seleccionado para continuar con el desarrollo experimental del proyecto.

5.6. Perfiles de disolución

5.6.1. Aparato 2 USP

Los perfiles obtenidos en el aparato 2 USP arrojaron buenos resultados sobre el porcentaje disuelto del fármaco en las tabletas en ambos medios de disolución, tanto para el medio de agua destilada como para el medio de S.A. de fosfatos 6.8 (Fig. 4 y Fig. 5). Sin embargo, no fue el porcentaje esperado de fármaco disuelto.

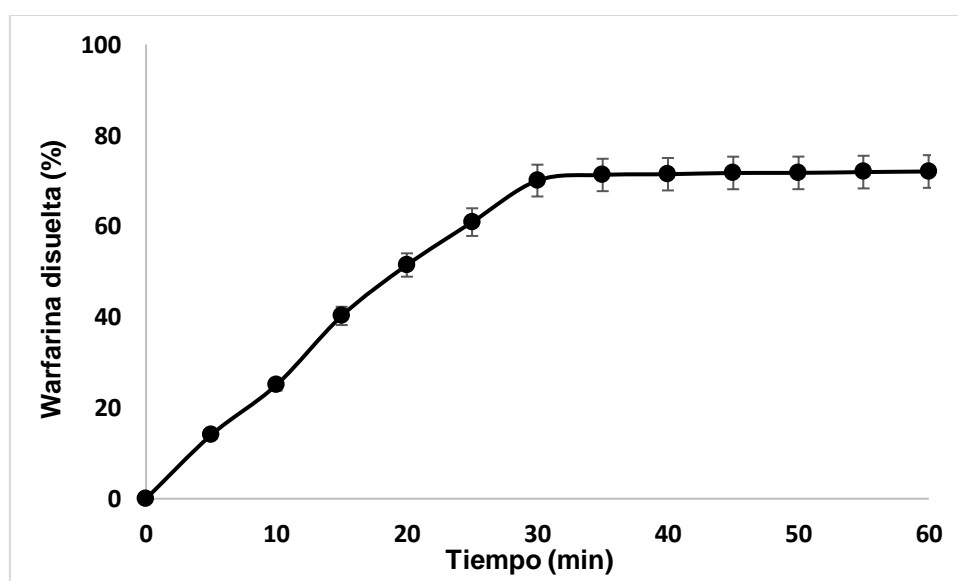


Figura 4. Perfil de disolución de Warfarina 5 mg. Aparato 2 USP a 75 RPM con 900 ml de agua destilada. Media \pm DE, n =12.

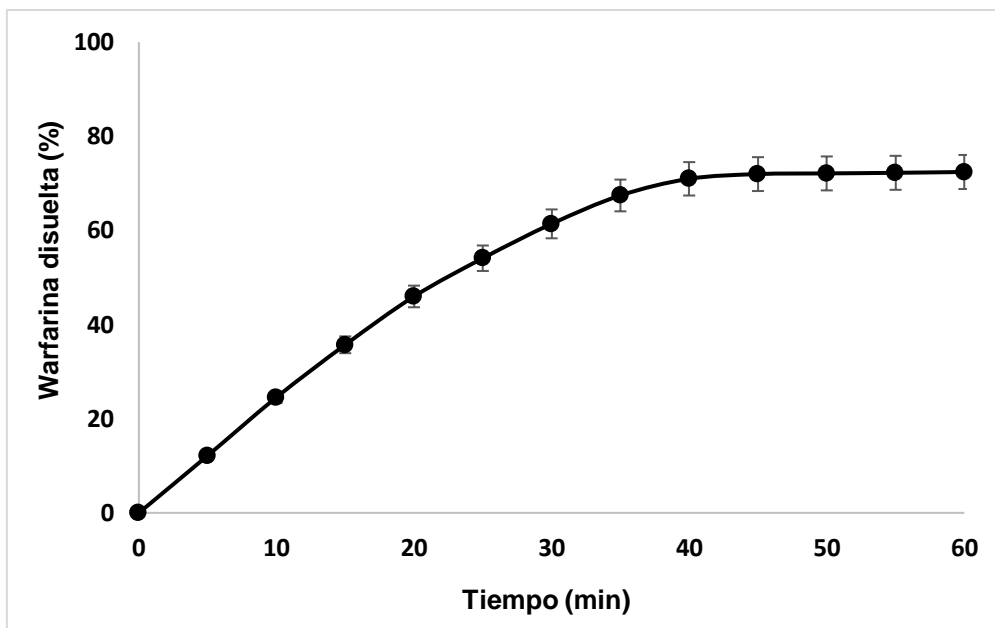


Figura 5. Perfil de disolución de Warfarina 5 mg. Aparato 2 USP a 75 RPM con 900 ml de SA de fosfatos pH 6.8. Media \pm DE, n =12.

Los resultados nos muestran que el medicamento no cumple con las especificaciones farmacopeicas de Q requerida (80% de Warfarina disuelta a los 30 minutos). El medio de disolución de agua destilada tuvo un porcentaje de fármaco disuelto de 70.025% a los 30 minutos, por otro lado, el medio de disolución de SA de fosfatos pH 6.8 tuvo 61.4% de fármaco disuelto a los 30 minutos, por lo que el fármaco tuvo una velocidad de disolución más rápida en el medio de agua destilada.

El mayor porcentaje de disolución en agua destilada fue de 72.02%, mientras que en SA de fosfatos pH 6.8 fue de 72.44%. Ambos porcentajes fueron obtenidos en la última toma de muestra (60 min).

En algunas situaciones, aun cuando el fármaco es muy soluble en el medio se puede encontrar con una disolución lenta, por ejemplo, si las partículas sólidas son muy grandes y presentan una superficie expuesta relativamente baja, o si su coeficiente de difusión (cantidad de una determinada sustancia que se difunde por unidad de área en 1 s) es demasiado pequeño. ⁽¹⁴⁾

Sin embargo, puede haber otros factores que influyeran en la baja velocidad de disolución del fármaco, como la formulación de las tabletas (interacción con los excipientes) o la presencia de un recubrimiento delgado de película.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos con respecto a la Q del fármaco, se debe considerar el desarrollo experimental con otra marca comercial del fármaco y comparar los resultados con los presentados en esta investigación.

5.6.2. Aparato 4 USP

Los perfiles obtenidos en el aparato 4 USP nos indican que únicamente los medios de agua destilada y SA de fosfatos pH 6.8 arrojaron buenos resultados sobre el porcentaje disuelto del fármaco en las tabletas (Fig. 6 y Fig. 7), sin embargo, no fue el porcentaje esperado de fármaco disuelto en ninguno de los dos medios. Por otro lado, los medios de SA fosfatos pH 4.5 y HCl 0.1 N arrojaron porcentajes muy bajos de disolución del fármaco (Fig 8 y Fig. 9).

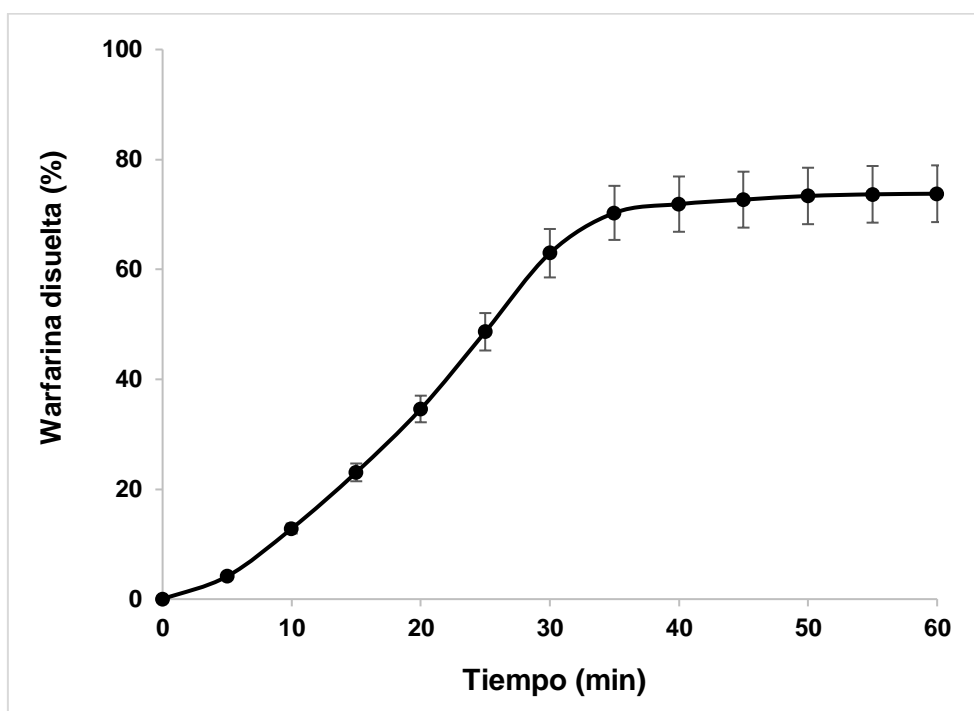


Figura 6. Perfil de disolución de Warfarina 5 mg en el Aparato 4 USP en agua destilada. Media \pm DE, n =12.

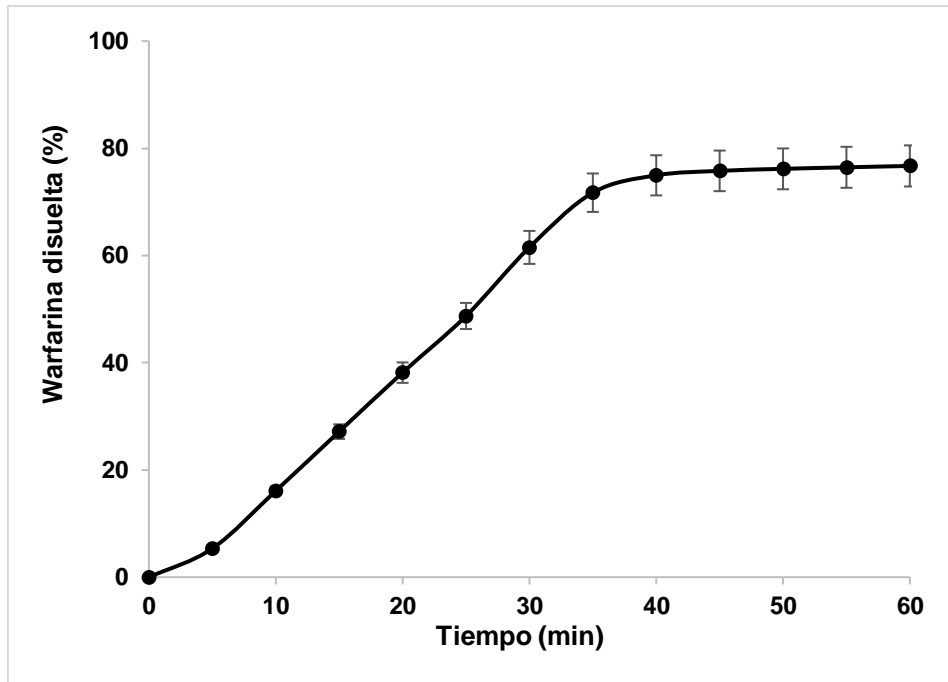


Figura 7. Perfil de disolución de Warfarina 5 mg en el Aparato 4 USP en SA de fosfatos pH 6.8. Media \pm DE, n =12.

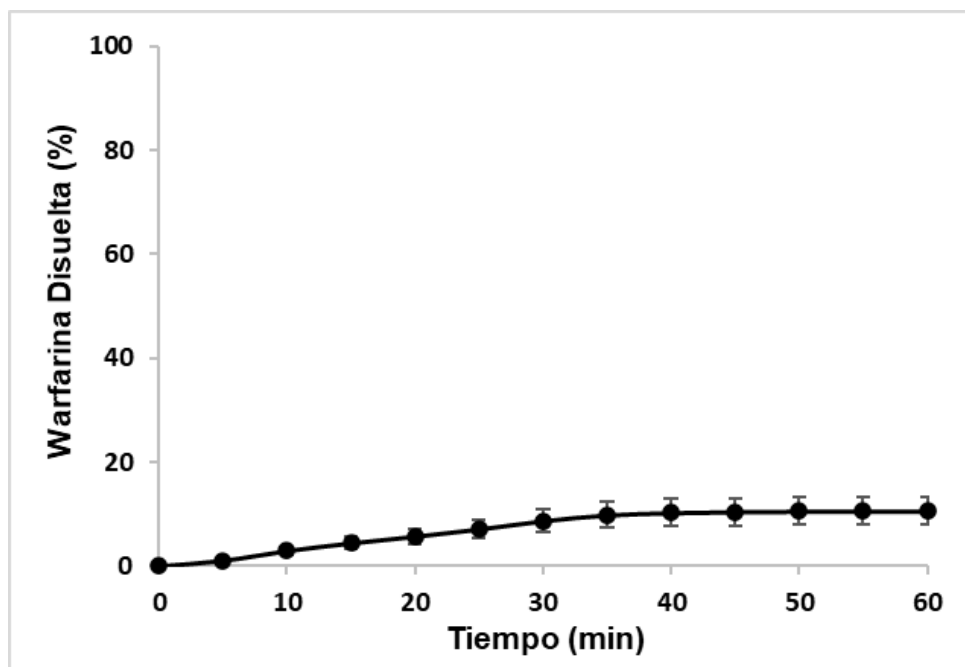


Figura 8. Perfil de disolución de Warfarina 5 mg en el Aparato 4 USP en SA de fosfatos pH 4.5. Media \pm DE, n =12.

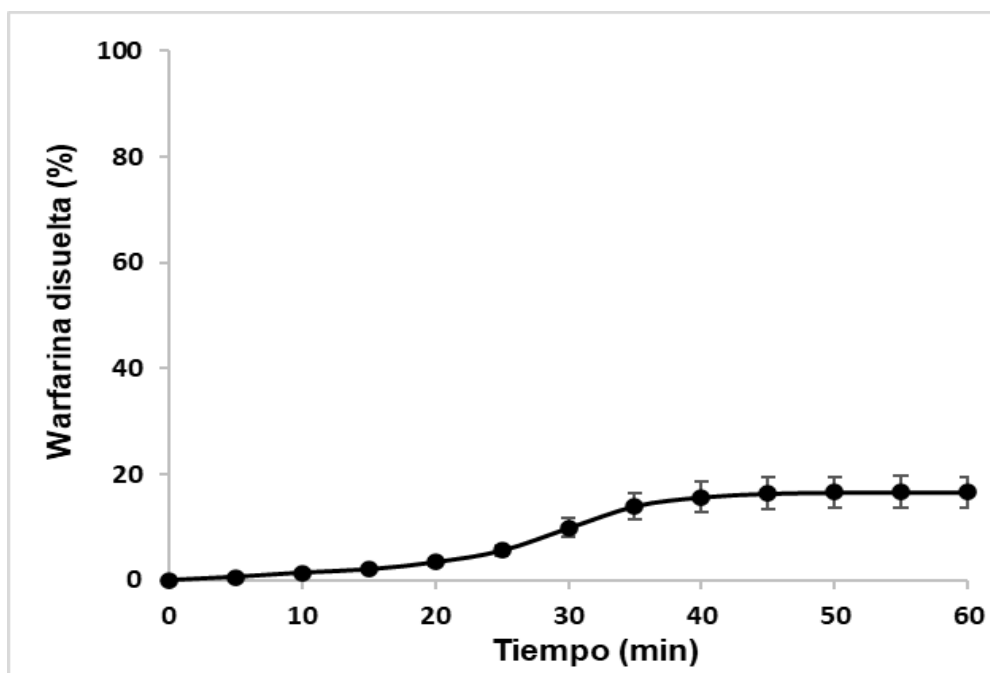


Figura 9. Perfil de disolución de Warfarina 5 mg en el Aparato 4 USP en HCl 0.1 N. Media \pm DE, n =12.

Al igual que en el aparato 2 USP, en ninguno de los cuatro medios de disolución se alcanzó las especificaciones farmacopeicas de Q para Warfarina.

5.6.3 Análisis de datos

Los valores de TMD y ED para los perfiles de disolución del aparato 2 USP y 4 USP se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Valores de MDT y DE para los medios de disolución.

Aparato	Parámetros	Medio de disolución			
		Agua destilada	SA de fosfatos pH 6.8	SA de fosfatos pH 4.5	HCl 0.1 N
2 USP	TMD (%)	14.48	16.86	-	-
	ED (%)	54.64	52.07	-	-
4 USP	TMD (%)	20.35	20.21	18.94	26.62
	ED (%)	48.75	50.88	7.29	9.24

Los resultados muestran que el valor más bajo para TMD y el valor más alto para ED en el aparato 2 USP se obtuvieron en el medio de agua destilada. En el aparato 4 USP, el valor más bajo para TMD se obtuvo en el medio SA de fosfatos pH 4.5 y el valor más alto para ED en el medio SA de fosfatos pH 6.8.

La tabla 9 muestra los valores de las cinéticas de los perfiles de disolución en el aparato 2 USP.

Tabla 9. Cinéticas de disolución de Warfarina en el aparato 2 USP.

Cinéticas	Medio de disolución			
	Agua destilada		SA de fosfatos pH 6.8	
	r ²	AIC	r ²	AIC
Gompertz	0.9580	66.16	0.9821	56.42
Higuchi	0.8629	79.49	0.9203	73.48
Hixon-Crowell	0.8012	83.95	0.9052	75.57
Korsmeyer-Peppas	0.8505	81.39	0.9178	74.72
Logistic	0.9449	69.40	0.9815	56.78
Weibull 1	0.9321	72.65	0.9722	62.42
Weibull 4	0.9977	32.82	0.9983	29.72
Orden 0	0.3823	97.55	0.6249	92.07
1^{er} Orden	0.8886	77.00	0.9560	66.36

Los resultados indican que el fármaco se ajusta a la cinética de Weibull 4 en los dos medios de disolución utilizados en el aparato 2 USP. Se tomó en cuenta el valor más alto para r² y el valor más bajo para AIC.

La tabla 10 muestra los valores de las cinéticas de los perfiles de disolución en el aparato 4 USP.

Tabla 10. Cinéticas de disolución de Warfarina en el aparato 4 USP.

Cinéticas	Medio de disolución							
	Agua destilada		SA de fosfatos pH 6.8		SA de fosfatos pH 4.5		HCl 0.1 N	
	r ²	AIC	r ²	AIC	r ²	AIC	r ²	AIC
Gompertz	0.9719	67.29	0.9767	64.96	0.9467	25.80	0.9236	46.79
Higuchi	0.8235	88.49	0.8526	86.26	0.8910	33.51	0.6935	62.61
Hixon-Crowell	0.9278	77.78	0.9494	73.42	0.8069	40.37	0.8907	50.23
Korsmeyer-Peppas	0.8789	84.84	0.9033	82.06	0.9163	31.21	0.8861	51.59
Logistic	0.9641	70.26	0.9783	64.13	0.9230	30.20	0.8977	50.29
Weibull 1	0.9563	73.33	0.9647	70.70	0.9468	26.51	0.9105	49.43
Weibull 4	0.9980	36.98	0.9964	43.75	0.9952	-1.81	0.9928	19.85
Orden 0	0.8321	87.90	0.8401	87.23	0.7862	41.60	0.8919	50.10
1^{er} Orden	0.9252	78.19	0.9456	74.30	0.8167	39.75	0.8894	50.37

Al igual que los valores obtenidos en el aparato 2 USP, las cinéticas de disolución en el aparato 4 USP nos indican que el medicamento se ajusta a la cinética de Weibull 4 en los cuatro medios de disolución.

6. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

Se cumplió con el objetivo principal del proyecto, el cual es determinar los perfiles de disolución de Warfarina en tabletas utilizando el aparato 2 USP y 4 USP.

Además, se utilizaron otros medios de disolución distintos a los establecidos por la FDA, esto con la finalidad de observar si el medicamento tenía la misma velocidad de disolución cuando se presentaba un cambio en las características del medio. Se realizaron los cálculos estadísticos de TMD, ED y cinéticas de disolución de cada uno de los perfiles para identificar el comportamiento del fármaco, cumpliendo de esta manera los objetivos específicos de la investigación.

Por otro lado, se realizaron pruebas al fármaco a distintas condiciones en el equipo, como lo fue la variación de RPM en el aparato 1 USP y 2 USP, demostrando si estos cambios lograban influir en la velocidad de disolución del fármaco.

7. CONCLUSIONES

Una vez analizados todos los resultados obtenidos, es posible decir que se obtuvieron óptimos resultados en las pruebas preliminares para la validación del fármaco, ya que los valores se encuentran dentro de los parámetros de referencia oficiales. Sin embargo, no se obtuvieron resultados aceptables, en su totalidad, para la validación del medicamento, ya que, al evaluar los datos de precisión del medicamento, se obtuvieron resultados aceptables por día, pero fuera de los parámetros de referencia al compararlos entre distintos días. Por lo que, la realización de un mejor procedimiento para la validación del medicamento, podría arrojar mejores resultados.

Los perfiles de disolución fueron realizados satisfactoriamente para los distintos medios de disolución en los aparatos 2 USP y 4 USP.

En el aparato 2 USP, los perfiles de disolución obtenidos no cumplen con las especificaciones farmacopeicas para Warfarina, obteniendo un valor de Q menor al 80% de disolución a los 30 minutos en ambos medios de disolución. De igual manera, en el aparato 4 USP los datos obtenidos no cumplen con este valor de Q en ninguno de los medios de disolución.

En base a estos resultados, se sugiere una evaluación de los componentes de las tabletas de COUMADIN® (5 mg Warfarina), para identificar las posibles causas de la baja velocidad de disolución del fármaco. Por otro lado, se recomienda realizar estudios utilizando otras marcas comerciales del fármaco y comparar los resultados con los obtenidos en este proyecto.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Culver A. (2014). Department of Pharmacy con Clinical Nutrition and Vascular Nursing. Health Learning Center de Northwestern, Memorial Hospital.
2. Hirsh J., Fuster V., Ansell J., Halperin JL. (2003). American College of Cardiology Foundation guide to Warfarin therapy. American Heart Association.
3. Sánchez H., Cárdenas A., Mercado CJ., Domínguez MG., Gómez EH. (2016). Validation of an analytical HPLC method for the quantification of warfarin sodium in tablets. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas, Vol. 45, Núm. 3.
4. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), Décima edición. México 2011.
5. <https://www.vademecum.es/principios-activos-warfarina-b01aa03>
6. Rodríguez CR. Vademécum Académico de Medicamentos. Sexta edición. Mcgraw-Hill Spanish (2001).
7. Sutcliffe FA., MacNicoll AD., Gibson GG. (1997). Aspects of anticoagulant action: a review of the pharmacology, metabolism and toxicology of warfarin and congeners. Rev Drug Metab Drug Interact.
8. Katzung GB. Farmacología básica y clínica, Onceava edición. McGrawHill Lange (2010).
9. Yang H., Jarzebowski W., Nouhaud C., Belmin J., Lafuente-Lafuente C. (2016). Anticoagulation use in older patients with atrial fibrillation in a cardio-geriatric unit.
10. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos. Administración de Alimentos y Drogas. Centro de Evaluación e Investigación de Drogas (CDER). Agosto 1997.
11. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.

- 12.**Lynch SS. (2019) Introducción a los farmacos., PharmD, University of California San Francisco School of Pharmacy. Ultima revision completa Jul, 2019.
- 13.**US. FOOD&DRUGSADMINISTRATION (FDA). October 2019.
- 14.**Talevi A., Quiroga P., Ruiz ME. (2016). Procesos biofarmacéuticos: Su relación con el diseño de formas farmacéuticas y el éxito de la farmacoterapia. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad de la plata.

Vo. Bo de los asesores respecto a los contenidos académicos



M. en C. José Raúl Medina López



Dr. Juan Carlos Ruiz Segura

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Informe de actividades del Servicio Social: Determinación de perfiles de disolución de Warfarina en tabletas utilizando los Aparato 2 y 4 USP

Proyecto genérico correspondiente a: Evaluación de productos relacionados con la salud.

Alumno: Luis Daniel Mazón Román **Matricula:** 2152032107

Dirección: Calle Fidel Velázquez No.16, Colonia Benito Juárez. Iguala, Guerrero. C.P. 40015

Teléfono: 7331062260

Asesores: M. en C. José Raúl Medina López M
Dr. Juan Carlos Ruiz Segura

Lugar de realización: Laboratorio de Farmacocinética y Farmacodinamia N-102, UAM-X.

Fecha de inicio del proyecto: 1 de febrero de 2019

Fecha de término del proyecto: 1 de agosto de 2019

Septiembre 2020

9. RESUMEN

INTRODUCCIÓN

Los anticoagulantes son medicamentos que previenen la formación de coágulos sanguíneos. También evitan que los coágulos de sangre ya existentes se hagan más grandes. Los coágulos en las arterias, las venas y el corazón pueden causar ataques al corazón, derrames cerebrales y bloqueos. La Warfarina también es conocida como medicamento “anticoagulante” o “diluyente de la sangre”. Impide la formación de coágulos en la sangre, o bien, que los coágulos ya formados aumenten su tamaño. Esto se debe a que la Warfarina impide la formación de los factores activos de la coagulación II, VII, IX y X en el hígado, mediante la inhibición de la gamma carboxilación de las proteínas precursoras mediada por la vitamina K. Este medicamento es administrado en pacientes con valvulopatías o síndrome coronario agudo, por lo que su empleo requiere de ciertas precauciones.

En este trabajo se realizó el estudio sobre la evaluación de la velocidad de disolución, así como el grado de liberación del fármaco de medicamentos comerciales de Warfarina. Se analizaron las tabletas del medicamento COUDAMIN siguiendo las específicas de la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013 para la validación de la disolución del fármaco. Se realizaron los perfiles de disolución en el aparato 2 USP siguiendo el procedimiento oficial de la FDA (Food and Drug Administration), quien es responsable de proteger la salud pública mediante la regulación de los medicamentos de uso humano. Con la finalidad de observar y comparar la velocidad de disolución del fármaco a distintas situaciones, se realizó un procedimiento no oficial utilizando el aparato 4 USP y empleando distintos medios de disolución para el fármaco.

OBJETIVOS

General

Determinar los perfiles de disolución de Warfarina en tabletas utilizando los Aparatos 2 y 4 USP.

Específicos

- Validar el método de disolución como lo indica la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013.
- Determinar los perfiles de disolución de Warfarina en tabletas a partir de al menos el medicamento de referencia utilizando los Aparatos 2 y 4 USP.
- Realizar los perfiles de disolución de Warfarina en distintas disoluciones: agua destilada, HCl 0.1 N, solución amortiguadora de fosfatos con pH de 6.8 y 4.5.

CONCLUSIONES

Una vez analizados todos los resultados obtenidos, es posible decir que se obtuvieron óptimos resultados en las pruebas preliminares para la validación del fármaco, ya que los valores se encuentran dentro de los parámetros de referencia oficiales. Sin embargo, no se obtuvieron resultados aceptables, en su totalidad, para la validación del medicamento, ya que, al evaluar los datos de precisión del medicamento, se obtuvieron resultados aceptables por día, pero fuera de los parámetros de referencia al compararlos entre distintos días. Por lo que, la realización de un mejor procedimiento para la validación del medicamento, podría arrojar mejores resultados.

Los perfiles de disolución fueron realizados satisfactoriamente para los distintos medios de disolución en los aparatos 2 USP y 4 USP.

En el aparato 2 USP, los perfiles de disolución obtenidos no cumplen con las especificaciones farmacopeicas para Warfarina, obteniendo un valor de Q menor al 80% de disolución a los 30 minutos en ambos medios de disolución. De igual manera, en el aparato 4 USP los datos obtenidos no cumplen con este valor de Q en ninguno de los medios de disolución.

En base a estos resultados, se sugiere una evaluación de los componentes de las tabletas de COUMADIN® (5 mg Warfarina), para identificar las posibles causas de la baja velocidad de disolución del fármaco. Por otro lado, se recomienda realizar estudios utilizando otras marcas comerciales del fármaco y comparar los resultados con los obtenidos en este proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Culver A. (2014). Department of Pharmacy con Clinical Nutrition and Vascular Nursing. Health Learning Center de Northwestern, Memorial Hospital.
2. Hirsh J., Fuster V., Ansell J., Halperin JL. (2003). American College of Cardiology Foundation guide to Warfarin therapy. American Heart Association.
3. Sánchez H., Cárdenas A., Mercado CJ., Domínguez MG., Gómez EH. (2016). Validation of an analytical HPLC method for the quantification of warfarin sodium in tablets. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas, Vol. 45, Núm. 3.
4. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), Décima edición. México 2011.
5. <https://www.vademecum.es/principios-activos-warfarina-b01aa03>
6. Rodríguez CR. Vademécum Académico de Medicamentos. Sexta edición. Mcgraw-Hill Spanish (2001).
7. Sutcliffe FA., MacNicoll AD., Gibson GG. (1997). Aspects of anticoagulant action: a review of the pharmacology, metabolism and toxicology of warfarin and congeners. Rev Drug Metab Drug Interact.
8. Katzung GB. Farmacología básica y clínica, Onceava edición. McGrawHill Lange (2010).
9. Yang H., Jarzebowski W., Nouhaud C., Belmin J., Lafuente-Lafuente C. (2016). Anticoagulation use in older patients with atrial fibrillation in a cardio-geriatric unit.
10. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos. Administración de Alimentos y Drogas. Centro de Evaluación e Investigación de Drogas (CDER). Agosto 1997.
11. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.

- 12.**Lynch SS. (2019) Introducción a los farmacos., PharmD, University of California San Francisco School of Pharmacy. Ultima revision completa Jul, 2019.
- 13.**US. FOOD&DRUGSADMINISTRATION (FDA). October 2019.
- 14.**Talevi A., Quiroga P., Ruiz ME. (2016). Procesos biofarmacéuticos: Su relación con el diseño de formas farmacéuticas y el éxito de la farmacoterapia. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad de la plata.

Vo. Bo de los asesores respecto a los contenidos académicos



M. en C. José Raúl Medina López



Dr. Juan Carlos Ruiz Segura