UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

(14)

ASPECTOS BIOFARMACEUTICOS DE LA DIFENILHIDANTOINA

M O N O G R A F I A

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

JUANA MA. ESTHER FLORES SALAS

1979

EXAMENES PROFESIONALES

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TASK 1979
MCT- [redacted] 120

Con gratitud y cariño:

A mi Padre

A mi Madre y Hermanas

Con gratitud y cariño:

A mi Padre

A mi Madre y Hermanas

Con agradecimiento para el Dr. Carlos Ramón García - por su valiosa ayuda en la elaboración de ésta monografía.

INDICE

INTRODUCCION Pag 1

CAPITULO I. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS. 3

1. Generalidades, 2. Nombre químico y sinónimos,
3. Fórmula condensada, 4. Fórmula desarrollada,
5. Peso molecular, 6. Descripción, 7. Solubilidad,
8. Punto de fusión, 9. Ensayos de identidad,
10. Ensayos de pureza: a) Contenido, b) Pérdida al secado, c) Metales pesados, d) Valoración.

CAPITULO II. METODOS DE VALORACION EN FLUIDOS BIOLOGICOS. 7

1. Espectrofotometría.
2. EMIT.
3. Inmunoensayos: a) Radioinmunoensayo, b) Spin inmunoensayo, c) Fluoroinmunoensayo.
4. Cromatografía Gas-Líquido.

CAPITULO III. FARMACOLOGIA. 15

1. Efectos farmacológicos.
2. Mecanismo de acción.
3. Reacciones adversas.
4. Usos clínicos: 1. Como Anticonvulsivo
   2. Como Depresor Cardíaco
5. Posología y administración.

CAPITULO IV. FARMACOCINETICA. 26

1. Absorción.
2. Distribución.
3. Metabolismo.
4. Excreción.

CAPITULO V. BIODISPONIBILIDAD. Pag 40

1. Biodisponibilidad a partir de datos de concentración de fármaco en sangre.
2. Biodisponibilidad a partir de datos de exereción urinaria del fármaco.
3. Factores que afectan la Biodisponibilidad.

CAPITULO VI. ASPECTOS SOCIOECONOMICOS. 63

1. Incidencia de la Epilepsia.
2. Importación.
3. Fracción Arancelaria.
4. Precio en el Mercado Internacional.
5. Precio Oficial en México.
6. Medicamentos a partir de Difenilhidantoína.
7. Consumo por el IMSS.

CAPITULO VII. CONCLUSIONES. 66

CAPITULO VIII. BIBLIOGRAFIA. 68

INTRODUCCION

Desde la introducción de la Difenilhidantoína como medicamento anticonvulsivo, en 1938, se inició una nueva era en el tratamiento de la Epilepsia de Gran Mal y Epilepsia Psicomotora. La Difenilhidantoína es el fármaco de elección para la terapia de ambas enfermedades debido a su acción como depresor central selectivo del sistema nervioso y no poseer efecto sedante. Sin embargo, más que con otros fármacos, su administración requiere de una mayor experiencia y vigilancia, ya que presenta una amplia variedad de efectos tóxicos. Existe un márgen muy estrecho entre la dosis efectiva y la dosis tóxica. Por esto, debe existir un mayor control en la concentración de Difenilhidantoína en sangre, de manera que se pueda obtener una respuesta terapéutica con el mínimo de efectos colaterales.

Dada la importancia de éste fármaco como agente anticonvulsivo, se realiza la presente monografía cuyo propósito ha sido revisar y analizar literatura de interés biofarmacéutico que permita, posteriormente, presentar en forma concreta situaciones en las que resulte de utilidad la investigación biofarmacéutica o farmacocinética.

Con este objeto, en el Capítulo I se presentan algunas propiedades fisicoquímicas de la Difenilhidantoína, en el Capítulo II se discuten diversos métodos para la cuantificación del fármaco en fluídos biológicos; en el siguiente Ca

pítulo (III) se revisa su farmacología; en los Capítulos IV y V se analizan datos de la farmacocinética y la biodisponibilidad de la Difenilhidantoína, respectivamente; en el Capítulo VI se revisan aspectos socioeconómicos; en el Capítulo VII se presenta en forma muy concreta las conclusiones logradas. Finalmente, en el Capítulo VIII se anexa la bibliografía citada.

CAPITULO I. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS

1.1 GENERALIDADES:

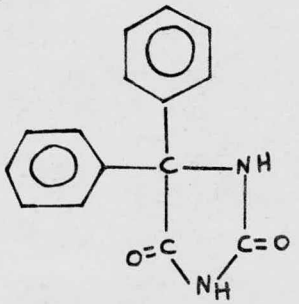
La Difenilhidantoína (DFH), es de origen sintético, derivada de las hidantoínas, que poseen un anillo de cinco miembros formado por ácido acético y urea; difiere de los barbitúricos, los cuales tienen un anillo de seis miembros formado por la condensación de urea y ácido malónico. Este núcleo de hidantoína adquiere propiedades anticonvulsivas potentes si se reemplazan los dos átomos de hidrógeno en la posición cinco del anillo, por dos grupos fenilo, obteniéndose la DFH; ésta es un ácido débil que puede dar lugar a la sal, la difenilhidantoína sódica (49,64). Fué sintetizada por Henze, Patente 2,409,754 en 1946 para Parke Davis, U.S. (95).

1.2 **NOMBRE QUIMICO Y SINONIMOS**: 5,5-difenil-2,4-imidazolidindiona. Fenitoína, Difenilhidantoína, Difidán, Dihicon, Dihidán, Di-Lan, Dilabid, Dilantin, Ekko, Zentropil,(38,95).

En la USP XIX (1975), se modificó el antiguo nombre oficial de Difenilhidantoína (USP XVIII), por el de Fenitoína.

1.3 **FORMULA CONDENSADA**: $C_{15}H_{12}N_2O_2$

1.4 **FORMULA DESARROLLADA**:



1.5 PESO MOLECULAR: 252.26

1.6 DESCRIPCION: Polvo cristalino blanco, inodoro. Poco higroscópico, expuesto al aire absorbe gradualmente bióxido de carbono.

1.7 SOLUBILIDAD: Prácticamente insoluble en agua. Un gramo se disuelve en 60 ml de alcohol etílico; en 30 ml de acetona; ligeramente soluble en éter y cloroformo (1:600 y 1:500 , respectivamente)(104).

La DFH es más soluble en soluciones alcalinas a 25°C. En soluciones metanólicas a 25 y 37°C muestra un aumento en su solubilidad, al aumentar la concentración de alcohol (de 0 a 4%); además, presenta el esperado aumento en solubilidad con la temperatura (88).

El valor del pKa determinado por Schwarts et al.(88) es de 8.06, que difiere ligeramente del reportado por Agarwal y Blake (108) de 8.3 .

1.8 PUNTO DE FUSION: 295 - 298°C.

1.9 ENSAYOS DE IDENTIDAD: Dá reacción de coloración amarillo claro al disolverse en una solución de hidróxido de sodio. Una gota de una solución etanólica de DFH en un papel filtro impregnado con una solución acuosa al 10% de ortofosfato trisódico y detectado con rocío de nitrato mercuroso, produce una mancha de color negro (104).

El espectro de absorción IR en pastilla de bromuro de potasio, presenta una longitud de onda máxima como en la preparación de referencia de la USP XIX; dicho espectro se presenta en la Figura No.1 .

En el espectro de absorción UV de una solución metanólica de DFH, se observa un máximo a 258 mμ($E_{1\%}$, lcm.29.2)(104)

1.10 ENSAYOS DE PUREZA: a) Contenido. La difenilhidantoína contiene no menos del 98.5% y no más de 100.5% de -- $C_{15}H_{12}N_2O_2$, calculado en base seca.

b) Pérdida al secado. Pierde no más del 1% de su peso, al secar a 105°C durante cuatro horas.

c) Metales pesados. El límite es de 0.002%.

d) Valoración. Consiste en disolver la difenilhidantoína en dimetilformamida y titular con metóxido de sodio, empleando como indicador una solución de azovioleta en benceno hasta color azul (95).

Se puede determinar DFH mediante una hidrólisis, seguida de la oxidación a benzofenona y cuantificación subsecuente por espectrofotometría (106), o por cromatografía en placa fina(105).

CAPITULO II. METODOS DE VALORACION EN FLUIDOS BIOLOGICOS

En el manejo clínico de pacientes epilépticos mediante un tratamiento crónico con DFH, es necesario controlar -- frecuentemente los niveles sanguíneos; de este modo, la dosificación adecuada y la posibilidad de toxicidad pueden ser - valoradas en las muestras biológicas (sangre, orina y saliva). Para tales propósitos es necesario contar con un método de cuantificación de la DFH que sea específico, rápido, sensible, exacto y reproducible y si es posible de bajo costo.

Por tal motivo, se hace una revisión de los métodos - que se emplean para su valoración en fluídos biológicos.

2.1 Método Espectrofotométrico.

Wallace (96), propuso un método que no requiere la separación de la DFH de otros fármacos ácidos con los cuales - frecuentemente se le asocia. El método se basa en la hidrólisis del anillo de la hidantoína con una base fuerte, obteniéndose una amida, la cual es oxidada con permanganato de potasio hasta benzofenona y después extraída con heptano. El - espectro de absorción de la DFH en la región del ultravioleta no es bien definido y hace difícil su determinación, por lo que es necesario la obtención de un compuesto que sea más fácilmente detectable, en éste caso la benzofenona.

El procedimiento consiste en ajustar el pH de una muestra de sangre, suero u orina, entre 6 y 7 por adición de HCl 0.5 N y extraer el compuesto con cloroformo. A la capa - clorofórmica se le añade hidróxido de sodio 1 N y se separa; se reduce su volumen en un baño de agua de 50 a 60°C con vacío, hasta obtener un ml; a éste se le añade permanganato de potasio al 1% en hidróxido de sodio 7 N y n-heptano, poniendo a reflujo por 30 min con agitación magnética constante. - Inmediatamente después se enfría y se separa el n-heptano --

del permanganato de potasio y se lee al espectrofotómetro a 247 milimicras, usando heptano como blanco. Este método detecta concentraciones de DFH de 0.25 a 0.50 µg/ml de muestra, tomando como base 10 ml de ésta.

Saitoh et al.(87), proponen una modificación al método de Wallace, variando las condiciones de reacción e incluso el tiempo de oxidación. No se requiere de la tediosa recolección del producto de oxidación, mediante extracción continua, para oxidar la DFH; éste método puede usarse en la determinación de niveles en sangre y plasma, después de una inyección de 50 mg de DFH sódica, empleándose de 0.1 a 0.4 ml de muestra. Es posible valorar un gran número de muestras en un tiempo corto, ya que se elimina el tiempo de reflujo. El producto de la oxidación (benzofenona) se determina en una amplia escala de 220 a 270 nm, con intervalos de 10 en 10 en cada lectura; se utilizan microceldas en el espectrofotómetro.

No existen interferencias de fármacos como la acetilfeneturida, clordiazepóxido, clorhidrato de clorpromazina, diazepam, etosuximida, mefobarbital, metarbital, nitrazepam y clorhidrato de tioridazina. Además, de acuerdo a lo reportado por Wallace, el metabolito primario de la DFH no interfiere.

Wallace y Hamilton (97) proponen algunas otras modificaciones al método original, con el objeto de determinar el fármaco en muestras de 0.4 a 2 ml. Una de las modificaciones consiste en utilizar condensadores convencionales empleando 1 ml de plasma, y la otra modificación es utilizar un condensador de reflujo modificado, que requiere de 0.1 a 0.2 ml de muestra; la recuperación total en el fluído biológico es de 94%, aproximadamente.

Si bien las técnicas sin reflujo no proveen la sensibilidad obtenida mediante el reflujo, si ofrecen la ventaja de no requerir grandes aparatos de reflujo, logrando una sen

sibilidad óptima en menos tiempo del que requiere la téenica antes eitada.

2.2 Método E M I T .

El método EMIT (técnica de medición de enzimas con inmunoensayo multiplicado), es también aplicable al control de los niveles plasmáticos de la DFH,(86,128).

Este método emplea la enzima glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G-6-FD) acoplada al fármaco, formando un complejo fármaco-enzima que retiene la actividad enzimática. En la -- reacción de la enzima G-6-FD con el sustrato (G-6-F), la coenzima dinucléotido de nicotinamida y adenina (NAD^+) es convertida a su forma reducida (NADH); el cambio en la concentración de ésta coenzima se mide espectrofotométricamente. - Cuando el complejo fármaco-enzima se une al anticuerpo se -- produce la inhibición de la actividad enzimática. Si el fármaco está presente en el suero del paciente, éste competirá por el anticuerpo con el complejo fármaco-enzima. Como resultado, la actividad de la enzima residual es proporcional a - la concentración del fármaco antiepiléptico en la muestra.

Schmidt et al.(86), reportan una evaluación del método EMIT, llevada a cabo por siete laboratorios europeos, empleando muestras de suero comunes e instrumentos y reactivos de una compañía estadounidense. La sensibilidad del método - permite detectar valores de 1 μg/ml de DFH; el coeficiente - de correlación aplicado al promedio de las concentraciones - fué de 0.971 y su reproducibilidad es similar a la del método de Cromatografía Gas-Líquido.

London (50) describe un método en el que adapta el -- sistema EMIT a una centrífuga (Centrifiquem); se hacen diluciones del estándar y las muestras, y se añade un reactivo A (Ac/sustrato), se transfiere a la centrífuga donde se halla un reactivo B (enzima), y se efectúa la lectura. Todos los -

reactivos, muestras y soluciones amortiguadoras están en la misma proporción que en el procedimiento EMIT. Los valores - de 20 muestras analizadas dieron un coeficiente de correlación de 0.9937; su reproducibilidad permitió una buena correlación con los resultados obtenidos de 36 muestras de otro - estudio. Puede detectar valores de 1 µg/ml de DFH.

Las modificaciones hechas por Long (51), al método de London (50), eliminan la necesidad de una primera dilución - tanto de los estándares como de las muestras y el tamaño de la muestra requerida es de 5 µl. Hubo un coeficiente de variación de 2.5% entre cada muestra y de 4 a 5% entre cada serie de muestras, dentro del rango terapéutico del fármaco.

2.3 Métodos de Inmunoensayo.

a) Radioinmunoensayo.

Tigelaar et al.(91) desarrollaron un método de radioinmunoensayo (RIA), describen la forma de producir los anticuerpos y el modo de realizar el análisis. El principio básico del RIA deriva de la capacidad de la DFH no marcada para competir con una cantidad conocida de DFH-C^{14} (inhibición -- competitiva), por el sitio de unión del anticuerpo.

El método consiste en tomar muestras de 0.1 ml y se - diluyen, incubando a temperatura ambiente por 45 min, antes de la adición de sulfato de amonio al 80% pH 7 ; se espera - 30 min para que se efectúe la reacción, se centrifuga por 20 min y se añade el aquasol; se agita y se lee en un espectrómetro de centelleo. El método detecta concentraciones de -- 0.03 µg/ml del fármaco en 0.1 ml de muestra, resultando en - un 15% de inhibición de la unión de DFH-C^{14} al anticuerpo.

Cook et al.(18), analizaron muestras de saliva y plasma por medio del RIA, a partir de 10 µl de cada una de tales

muestras y se encontró una excelente relación lineal (r=0.98) entre las concentraciones de la DFH en los dos fluídos. La sensibilidad del método permite determinar un rango de concentraciones en plasma de 0.38 a 433 μg/ml y en saliva de 0.04 a 4.3 μg/ml, siendo además reproducible.

b) Spin Inmunoensayo.

Montgomery et al.(59), reportan un método de Spin inmunoensayo, que se basa en la rápida rotación del fármaco con spin libre mareado, que dá tres picos agudos en la resonancia del spin electrónico en un espectrómetro; en contraste a esto, cuando el fármaco se une al anticuerpo, los picos desaparecen en la resonancia electrónica del spin. Por otro lado, cuando el fármaco no mareado desplaza competitivamente al fármaco con spin mareado del anticuerpo, el espectro del spin reaparece nuevamente. La altura de los picos son directamente proporcionales a la concentración del fármaco no marcado. El método consiste en tomar muestras del reactivo spin mareado-gamaglobulina y suero, incubar de 60 a 90 min y leer al espectrómetro. El método permite trabajar en un rango de de 1 a 50 μg/ml, aplicable a la determinación rutinaria en clínica.

c) Fluoroinmunoensayo Polarizado.

Mc Gregor et al.(56), describen un método de fluoroinmunoensayo polarizado; emplean un análogo de la DFH fluorescente mareado de fácil preparación, el fluoresceintiocarbamil-α,α-difenilglicina (FTC-DFG). Se elimina la interferencia de proteínas mediante la degradación proteolítica de las muestras y no se requiere de reactivos radioactivos. El método consiste en incubar las muestras y estándares con solución reguladora de fosfato de sodio 0.1 M pH 7.5, seguida de FTC-DFG e inmunoglobulinas de oveja, de 30 a 60 min a 25°C y se mide la fluorescencia polarizada. La aplicabilidad del mé

todo está dentro del rango rutinario (1 a 50 µg/ml) y fácilmente pueden ser determinadas gran cantidad de muestras.

2.4 Cromatografía Gas-Líquido.

Mac Gee (57) desarrolló un método de cromatografía -- gas-líquido (CGL) utilizando las propiedades del hidróxido - de tetrametilamonio, que actúa como base fuerte y en solución es usado para extraer especies aniónicas de disolventes orgánicos. El método se basa en la metilación del fármaco y del estándar interno; el agente metilante es el hidróxido de tetrametilamonio. El procedimiento consiste en añadir al -- plasma y al estándar interno (3 µg de 5-(4-metilfenil)-5-fenilhidantoína por ml de tolueno), NaH_2PO_4 y se centrifugan; se transfiere la capa de tolueno y se le adiciona hidróxido de tetrametilamonio al 24% en metanol, se agita y se centrifuga nuevamente. Se toman 5 µl de la fase inferior y se inyectan al cromatógrafo. La cuantificación es por medio de -- una curva estándar de DFH en un rango de concentraciones de 0 a 60 µg/ml; el tiempo que requiere el procedimiento es de media hora, pudiéndose analizar 20 muestras diarias.

Karlen et al.(41), desarrollaron un procedimiento para determinar el principal metabolito de la DFH, el p-hidroxidifenilhidantoína (p-HFFH), en su forma no conjugada y conjugada. El método consiste en una extracción selectiva con - éter-tolueno para la forma no-conjugada y una pre-extracción con alcohol isoamílico, seguida de una hidrólisis ácida para la forma conjugada. Se emplea hidróxido de trimetilanilina - como agente metilante, la sensibilidad del método es de 0.1 µg/ml.

Midha et al.(60), desarrollaron un método que combina la cromatografía de gases con la espectrometría de masas; di

cho método permite la determinación simultánea de la DFH y - su principal metabolito en plasma y orina, por medio de hi-- drólisis enzimática, extracción y posterior determinación - por cromatografía. Se utiliza trimetilanilina como agente metilante; éste método detecta concentraciones de 150 ng/ml de DFH y 125 ng/ml del metabolito. Además, la combinación de éste método con la espectrometría de masas permite determinar las estructuras de los metilderivados del fármaco, el estándar interno y el metabolito.

Sabih y Sabih (84) también combinaron la cromatografía gas-líquido con la espectrometría de masas, para determinar la DFH en muestras de plasma y tejido; utilizan dimetilsulfóxido como agente metilante y una base fuerte. Se obtiene un derivado monometilo y un derivado dimetilo del fármaco, dependiendo de las condiciones en que se efectúe la reacción. Se determina su estructura mediante la espectrometría de masas.

Midha et al.(61), identificaron otros metabolitos de la DFH en orina de humanos, perros y monos; combinan la CGL con la espectrometría de masas para determinar su estructura, después de una administración del fármaco. Los compuestos en la orina se hidrolizan enzimáticamente y posteriormente se - efectúa la cromatografía gas-líquido-espectrometría de masas.

Stella (83), hizo una modificación al método de Orme (66) en la determinación de la DFH; utilizó una mezcla de - agentes metilantes (hidróxido de tetrametilamonio-hidróxido de trimetilanilina), que proveen una metilación suficiente y propiedades alcalinizantes al medio; minimizan así la interferencia de picos extraños resultantes de las altas concentraciones del hidróxido de trimetilanilina. Además, como en el método de Orme, también utiliza muestras de 100 µl de -- plasma en tolueno que contiene el estándar interno.

Evans (25), llevó a cabo un método por cromatografía líquida a alta presión para la determinación de la DFH en sangre y suero; mezcló la muestra con una solución de Na_3PO_4 0.1 M y éter etílico, centrifugando y desechando el sobrenadante; el residuo se acidificó con HCl 2 N pH 6.8, mezclándolo con éter etílico y centrifugando nuevamente. Se transfirió un ml de la fase superior y se evaporó inmediatamente antes de la inyección al cromatógrafo; las muestras se disolvieron en el disolvente y se inyectó 20 μl de ésta solución al cromatógrafo. En 4 ó 5 horas se puede efectuar el análisis de 24 muestras.

Estudios comparativos (17,20,82,85), de los diferentes métodos empleados en la determinación de concentraciones de la DFH en fluídos biológicos, analizan los resultados estadísticamente y obtienen una buena correlación entre ellos al evaluar costos, tiempo de análisis y resultados cuantitativos. El método EMIT y la cromatografía líquida a alta presión parecen ser los métodos más atractivos que los tradicionales espectrofotométrico y cromatografía de gases. Los resultados que se obtienen del radioinmunoensayo tienden a ser un poco más elevados en comparación con los demás métodos; su costo también es más alto. Sin embargo, para determinar el método a utilizar en un laboratorio, es necesario considerar factores como; costo de los instrumentos, disponibilidad de los mismos, costos de reactivos, técnicos expertos disponibles para su mantenimiento y empleo en otros tipos de análisis, que puedan realizarse con el equipo seleccionado.

CAPITULO III. FARMACOLOGIA

El sitio de origen y el mecanismo de acción de la mayoría de las convulsiones no están perfectamente establecidos. Las convulsiones jacksonianas o focales se originan claramente en la corteza y se puede reproducir un análogo experimental con una lesión irritativa en la corteza. Sin embargo, la mayor parte de las convulsiones del Gran Mal comienzan con pérdida de la conciencia y la anormalidad es difusa y no focal; son de origen subcortical, pero el sitio no se puede definir más exactamente. Muchas convulsiones experimentalmente inducidas, incluyendo las convulsiones por pentametiléntetrazol, aparecen aún después de un corte anterior a los tubérculos cuadrigéminos del neuroeje. No obstante, es costumbre suponer que cualquiera que sea el nivel de origen, las convulsiones se deben a la propagación de la actividad desde un foco de función anormal hacia el tejido nervioso normal. Los medicamentos anticonvulsivos podrían entonces actuar suprimiendo el foco causante de la crisis o impidiendo la propagación del impulso a través del tejido normal (64).

3.1 Efectos farmacológicos de la Difenilhidantoína.

La DFH posee propiedades anticonvulsivas selectivas en el caso del gran mal o epilepsia mayor, principalmente en convulsiones sintomáticas y epilepsia psicomotora (49,64,100, 107); no posee acción sedante (depresora del SNC) como los barbitúricos. No modifica el electroencefalograma (EEG) normal en reposo; el efecto en el electroencefalograma anormal del gran mal varía, ya que algunas veces mejora y hasta normaliza los trazos correspondientes, aún los de la epilepsia psicomotora, y en otros permanecen anormales, aunque desaparezcan los ataques correspondientes. Nunca suprime el electroencefalograma anormal del pequeño mal e inclusive puede

empeorar dichos accesos.

En descargas de ataques de foco primario inducidos experimental y crónicamente en animales (49,100), la DFH no previene la proyección del foco al diencéfalo, pero es definitivamente superior al fenobarbital bloqueando la extensión cortical de la actividad de los ataques del foco. Suprime la fase clónica en ratas y hombre, debido quizás a algún tipo de inhibición posiblemente presináptica. El efecto predominante de la DFH en éstos experimentos es su actividad contra la extensión de descargas de ataques. Esto parece ser de una particular significancia en su acción clínica y se correlaciona con las observaciones en pacientes en que la terapia con la DFH afecta completamente la disminución del gran mal o en ataques parciales, pero no evita completamente el aura sensoria u otras señales prodromales.

La DFH posee además una potente acción antiarrítmica cardíaca, que obedece seguramente a la estabilización de la membrana de las células miocárdicas, tal como sucede en el sistema nervioso (100).

A continuación se presenta un resumen de los efectos electrofisiológicos de la DFH (100).

a) Estabilización del umbral de acción (nervios periféricos, nervios invertebrados, músculo cardíaco).

b) Supresión de la potenciación postetánica (el aumento en la excitación sináptica resulta de la estimulación repetitiva).

c) Es poco el efecto en el electroencefalograma durante los ataques.

d) Tiene mayor efectividad (en animales) frente a la propagación tónica. Relativa ineficacia frente al foco de ataques clónicos generalizados. No eleva el umbral para ataques inducidos experimentalmente, a menos que baje anormalmente.

e) Clínicamente la mayor efectividad es en el control de los ataques clónicos (sugiriendo que, protege circundando

las neuronas normales frente a la invasión de descargas focales).

f) Puede invertir rápidamente la inducción digitálica de taquiarritmias ventriculares, clínica y experimentalmente.

3.2 Mecanismo de acción.

La difenilhidantoína no suprime la descarga de un foco producido experimentalmente, ni necesariamente altera la evidencia electroencefalográfica de la descarga focal en el hombre, pero puede disminuir las anormalidades difusas del electroencefalograma. Una explicación sencilla para el efecto de la DFH es que bloquea la propagación de la actividad eléctrica anormal, prolonga el período refractario y eleva el umbral sináptico. La acción puede ser sobre las neuronas más que sobre un área precisa del sistema nervioso, ya que un proceso difuso, la hipocalcemia tetánica, también es suprimida por la DFH (64,100).

Existen evidencias considerables que indican que la DFH bloquea la potenciación postetánica y estabiliza los efectos sobre la membrana como resultado directo o indirecto del movimiento de iones a través de las membranas de las células. Woodbury (100), basado en los efectos calculados en la concentración intracelular de cationes y en evidencias indirectas, sugiere que la DFH puede estimular el transporte activo de Na^+ en el cerebro y en otros sitios; aunque puede inhibir la actividad de la enzima Adenosina Trifosfatasa-Na^+, K^+ (ATPasa-Na^+,K^+), cuando la relación Na^+: K^+ es baja; parece aumentar la actividad enzimática cuando dicha relación es alta. De particular interés son las observaciones de que la DFH aumenta el flujo interno de K^+ en axones de langosta, pero no afecta el flujo externo de K^+(112). En plexo coroideo y otras células epiteliales no excitables, el flujo de Na^+ es mejorado en parte indirectamente por un aumento en la per

meabilidad de Na^+ de la superficie de la mucosa (100,119). - La estimulación del transporte de iones por la DFH puede aumentar la ventilación del K^+ y la expulsión del Na^+ por las neuronas y/o neuroglías y mejorar el movimiento del K^+ en el fluído cerebroespinal y fluído intersticial cerebral del plexo coroideo. Tales efectos se opondrían a las alteraciones - de éstos cationes, que ocurren durante la actividad de los - ataques y podría explicar el efecto de la DFH en las características anticonvulsivas.

Sin embargo, las observaciones de la actividad de la ATPasa-Na^+, K^+ , son variables, ya que algunos autores (113, 114) han encontrado que la actividad de la enzima es estimulada por la presencia de la DFH, y otros autores (117,126) - reportan que es inhibida. La DFH tiene otros efectos en las células de las membranas, disminuye la permeabilidad del Na^+ en la membrana de células neuronales (68,115,116,118), y actúa similarmente a la tetrodotoxina en axón de molúscos gi-- gantes, bloqueando los canales de Na^+ (69). Además, se ha observado una reducción de Ca^{++} en la permeabilidad de la membrana (120,123-125); parte de éstos efectos anticonvulsivos podrían resultar en una acción directa o indirecta en los -- neurotransmisores.

A continuación se presenta un resumen de las acciones propuestas para la DFH:

a) Estimulación del transporte activo Na^+, K^+ (100).

b) Inhibición del flujo de Na^+ pasivo en células estimuladas (pero no en reposo)(124).

c) Interferencia específica con los movimientos sinápticos transmisores (122).

d) Reducción del flujo de Ca^{++} (120,123-125).

A pesar de esto, la principal acción de la DFH es la inhibición específica de la permeabilidad al Na^+ (69). Otras acciones primarias adicionales pueden aún ser determinadas - en el futuro.

3.3 Reacciones adversas.

1. Efectos colaterales:

a) SNC. Los efectos colaterales más comunes son de -- origen vestíbulo-cerebeloso, esto es: ataxia, nistagmus y -- lenguaje farfullado. En algunos pacientes éstos efectos pueden ir acompañados de temblores y nerviosidad, y en otros de somnolencia y fatiga (49,64).

b) Hipertrofia gingival. La hipertrofia de las encías es un efecto colateral frecuente (20%), siendo estéticamente desagradable, pero sin causar mayor dificultad. Se observa - especialmente en los niños y jóvenes (49,64,100) y consiste en una tumefacción de las encías que se vuelven esponjosas, sangrantes, ocultando parte de los dientes. El mecanismo fundamental de la proliferación del estroma gingival no se conoce (45). Se ha notado que la hipertrofia no ocurre en pacientes desdentados y que la DFH aparece en la saliva, sea que - el medicamento se dé por vía oral o parenteral (100).

El cepillado de los dientes regular y vigorosamente - puede ser de algún valor para reducir al mínimo la hipertrofia gingival; puede ser necesaria la escisión de las encías hipertrofiadas por un cirujano dentista. El tejido hiperplásico no retrocede al descontinuar el medicamento.

c) Deficiencia en ácido fólico (32,64,77). La administración prolongada de la DFH puede conducir en un 5% (34), a macrocitosis o anemia megaloblástica, debido a la deficiencia de ácido fólico. El ácido fólico de la dieta ocurre en - forma de poliglutamatos que deben ser hidrolizados a folico-monoglutamatos antes de que se pueda realizar la absorción. La DFH inhibe la desconjugación en el ileon y reduce la absorción de aquél. Los cambios en los glóbulos rojos se pueden - prevenir o tratar con pequeñas dosis de ácido fólico o con - vitamina B_{12}.

d) Deficiencia de vitamina D. Pacientes que reciben - crónicamente grandes dosis de DFH, u otros anticonvulsivos -

en combinación con ésta, tienen calcio sérico disminuído y fosfatasa alcalina aumentada, en comparación con pacientes bajo la misma dieta adecuada que no reciben esos medicamentos (64). Después de muchos años de tratamiento algunos pacientes muestran raquitismo del adulto, esto es osteomalacia con fracturas patológicas y debilidad muscular (26,45). Las manifestaciones químicas son revertidas con vitamina D. Una población más joven de pacientes retardados con crisis convulsivas, que requieren de años de tratamiento, presentan engrosamiento de la bóveda craneana y tosquedad de las facciones, debido al agrandamiento de los labios y de la nariz(34). La fosfatasa alcalina está elevada en un 55% y la tosquedad facial aparece en un 19% de ésa población.

Este fármaco es un conocido inductor de enzimas microsómicas hepáticas y la hipótesis obvia es que la vitamina D es rápidamente inactivada; la conversión del colecalciferol (D_3) a su forma activa, el 25-hidroxicolecalciferol, es gobernada por las mismas enzimas.

e) Manifestaciones gastrointestinales. La DFH se distribuye como sal sódica y como tal es muy alcalina, resultando como consecuencia naúseas, vómito y dolor epigástrico (49, 103); éstas molestias se pueden reducir al mínimo dando el medicamento con o después de los alimentos.

2. Intoxicación por dosis excesivas. La ingestión de grandes dosis de DFH dá por resultado la intensificación de los signos cerebelosos ataxia y nistagmus; éstos tienen una cierta relación con los niveles sanguíneos (44), ya que el nistagmus puede aparecer a concentraciones aproximadas de 20 µg/ml, la ataxia a concentraciones de 30 µg/ml, y somnolencia a niveles de aproximadamente 40 µg/ml. Además, se presenta lenguaje farfullado, visión borrosa, disartria, diplopia, excitación y confusión, seguidos por depresión (28,49,111). La toxicidad aguda es muy baja.

3. Otros efectos tóxicos ocasionales incluyen manifestaciones hepáticas (49,36,103), nefritis intersticial (35,93) lupus eritematoso (36), atetosis inducida (3,12), e hirsutismo en mujeres jóvenes y niñas (34,49), cuya causa no se ha - determinado.

4. Reacciones alérgicas: consisten en erupciones morbiliformes (64,98), que aparecen en un 2-10%. En algunos casos la erupción puede ir acompañada de pirexia, eosinofilia y linfadenopatía (33). Se han producido también casos graves de dermatitis exfoliativa, agranulocitosis y trombocitopenia (36,64,103). Además, se han reportado el síndrome de pseudolinfoma (23) y cambios de los niveles de inmunoglobulinas en el suero (1,102) durante el tratamiento con éste fármaco.

5. Teratogenicidad. Existen evidencias de que niños - nacidos de madres que han tomado DFH durante el embarazo, -- son susceptibles a malformaciones y más recientemente al síndrome fetal, que es descrito por la presentación de uñas -- anormales, diplopia de las falanges, paladar agrietado, anormalidades de los músculos de los ojos y del oído interno (36, 45,78). Sin embargo, parecen intervenir otros factores como son otras enfermedades, otros medicamentos anticonvulsivos y fármacos no relacionados administrados durante el embarazo; todo ésto hace difícil la obtención de una relación completa para que se pueda concluir que la DFH es teratogénica.

3.4 Usos clínicos.

1. Como Anticonvulsivo. La difenilhidantoína se emplea en el tratamiento de la epilepsia mayor o gran mal y -- epilepsia psicomotora.

Buchthal y Svensmark (13) reportan la relación obtenida entre la concentración de DFH en suero y su efecto anti--

convulsivo en 12 pacientes, quienes recibieron por primera vez éste fármaco como única medicación. Se observó un mejoramiento clínico en la disminución de descargas paroxísticas vistas en el encefalograma, cuando se obtuvieron concentraciones en suero mayores de 10 µg/ml. En 51 pacientes con epilepsia de gran mal, 27 tuvieron un nivel de concentración en un rango de 11 a 48 µg/ml. El 29% de éstos pacientes, que aparentemente tomaron el fármaco irregularmente, se observaron concentraciones abajo de 10 µg/ml, presentando el 71% alta incidencia de ataques, un 25% tuvo menor frecuencia de ataques. Similarmente, disminuyó el número de descargas paroxísticas registradas en el EEG, con niveles arriba de 10 µg/ml y cuando estuvo por debajo de ésta concentración la incidencia de la actividad paroxística mostró aumento.

Reynolds et al.(76), reportan un estudio llevado a cabo con 31 pacientes adultos (sin tratamiento previo, con gran mal idiopático o focal, o ataques menores), que fueron tratados inicialmente con DFH. Se controló la concentración, alcanzando un rango óptimo de 10 a 20 µg/ml. Durante el tiempo de tratamiento (14.7 meses en promedio), solo 3 pacientes (10%) requirieron la adición de un segundo fármaco. En el rango óptimo solo ocurrió un ataque, siendo lenta la declinación en suero, en 14 pacientes (45%).

Shorvon et al.(94) reportan otro estudio similar, durante un promedio de 28.5 meses; obtuvieron un completo control en un 76-88% de los pacientes tratados; un 12% presentaron algunos ataques no obstante los niveles óptimos de concentración; además, hubo reducción en la velocidad de los ataques en un 98% para el gran mal y un 92-93% para ataques parciales.

Estos resultados obtenidos en el uso de la DFH permite a éstos autores enfatizar el uso innecesario de la polifarmacia, haciéndo solo uso de un medicamento para el con-

trol de los pacientes; se requerirá del uso de otro medicamento solo que el paciente continúe presentando ataques epilépticos.

Factores de gran importancia en el uso clínico de la DFH son el control adecuado de los niveles sanguíneos con un rango óptimo de concentración de 10-20 µg/ml (47,70,71,74, - 129). Se evita de ésta forma posibles intoxicaciones por sobredosis. Otro factor importante de tomar en cuenta, es la - interacción de la DFH cuando es asociada con otros medicamentos como la dexametasona (63), metilfenidato (62), diazepam (75), dopamina (9) y fenilbutazona (5), que pueden producir alteraciones en la concentración de la DFH en la sangre.

2. Como Depresor Cardíaco. Además del SNC, la difenil hidantoína tiene efectos en otros tejidos excitables, como - el corazón (100). Tiene efectos depresores en el músculo esquelético liso, siendo empleada en el tratamiento de miotonias; estabiliza las membranas y por consiguiente reduce la hiperexcitabilidad.

Oláveri y Balestrini (67), estudiaron 10 episodios - arrítmicos inducidos por digitálicos en 8 pacientes. En términos generales , la DFH mejoró la conducción aurículo-ventricular con disminución del grado de bloqueo y redujo notablemente el bigeminismo ventricular. Los pacientes con insuficiencia cardíaca posterior al infarto registraron mejores resultados, con reversión de la arritmia a ritmo sinusal.

Acosta et al.(2), valoraron también la acción antiarrítmica de la DFH en el tratamiento de la intoxicación y -- arritmias digitálicas, así como el tratamiento de las extrasístoles ventriculares de diversa etiología, Consideran beneficiosa la asociación de la DFH con la digital, en el tratamiento de padecimientos cardíacos crónicos con estrecho márgen tóxico-terapéutico de digitálidos.

3.5 Posología y administración.

Dosis usual: como anticonvulsivo, 100 mg 4 veces al día y como depresor cardíaco, 100 mg de 2 a 4 veces al día (95).

La dosis utilizada varía en adultos (36), de 100 a 600 mg en 24 horas; ésta última dosis es mal tolerada habitualmente.

Los niveles sanguíneos óptimos oscilan entre 10 y 20 µg/ml de suero, y para alcanzar este nivel sanguíneo, se deben tener en cuenta algunos aspectos (36). Inicialmente se requiere una concentración más elevada en suero, ya que durante los primeros días de tratamiento parte del fármaco se acumula en el cerebro y los niveles óptimos sólo se alcanzan entre los 6 y 10 días después de iniciado éste. Esto también funciona en forma inversa cuando se suspende el tratamiento, ya que la eliminación de la DFH acumulada en el sistema nervioso es mucho más lenta que en el suero sanguíneo. Las determinaciones en suero han demostrado que no se puede seguir aumentando las dosis indefinidamente, ya que una vez que se ha llegado al nivel teórico adecuado, la sobredosificación puede producir crisis mayores como resultado de una intoxicación (8,27,28,111).

En condiciones normales hay una concentración sérica adecuada que previene las crisis para cada paciente, siendo además variable en el curso del tiempo.

La dosis en niños es proporcionalmente más elevada que en el adulto (14,19,20,48,99,111).

Se sabe que en el adulto la relación es de 3.5 a 10; esto es, 3.5 mg de DFH por Kg de peso producen 10 µg/ml en suero; en cambio, en niños que pesan menos de 30 Kg, la relación es de 10 a 10, es decir 10 mg de DFH por Kg de peso darían 10 µg/ml. En los que pesan de 30 a 48 Kg, la relación es de 5 a 10, es decir 5 mg de DFH por Kg de peso producen una concentración sérica de 10 µg/ml (36).

Las explicaciones para el ajuste necesario de los niveles de concentración en los niños, sugieren un metabolismo más rápido, un gran volumen de distribución y absorción gastrointestinal deficiente (19,20,48,36). Es lógico suponer -- que una fuerte dosis inicial produzca un nivel sanguíneo adecuado en las primeras horas; sin embargo, esto está sometido a discusión (36,46,99).

Vía de Administración. La vía de administración habitual para la DFH es la oral; empleándose la intravenosa en - el estado de mal epiléptico (49,109,110). La dosis intravenosa es de 500 a 1000 mg (disueltos en 10 a 20 ml de disolvente), se administran en forma lenta, 25 a 50 mg por min, ya - que la inyección rápida ha causado la muerte.

La vía intramuscular, im., se usa solo en los casos en que hay dificultades para administrarla oralmente. Además, - se argumenta el empleo de la vía i.m. debido a la lenta e incompleta absorción de la DFH (16,42).

Para la administración de la DFH son de suma importancia las observaciones clínicas y de laboratorio (que incluyen concentraciones del fármaco en plasma), ya que constituyen - aún el mejor medio para ajustar el régimen de dosificación - en pacientes con alteraciones en la función hepática y renal; éstos pacientes pueden tener efectos complejos y paradójicos en la distribución del fármaco (15,37). Mediante éstos estudios se ha demostrado que la unión del fármaco a proteínas - resulta disminuída en los estados de mal funcionamiento renal o hepático. La concentración total de la DFH en plasma - se correlaciona pobremente con la eficacia y la toxicidad; un gran porciento de la DFH no unida a proteínas puede explicar la aparente eficacia y ocasional toxicidad en pacientes en quienes la concentración de la DFH es menor que la del -- rango terapéutico usual.

(3)

CAPITULO IV. FARMACOCINETICA

Utilizando toda la información posible acerca de un fármaco, y en algunos casos de sus metabolitos, en los fluídos corporales en función del tiempo, la farmacocinética intenta dar una descripción matemática para los cambios que suceden al fármaco desde el momento de su administración, hasta su completa eliminación. De ahí resulta la importancia de relacionar los parámetros cinéticos a la actividad farmacológica del fármaco en función del tiempo (81).

Los modelos matemáticos empleados en éstos estudios están basados en consideraciones y mediciones de procesos de absorción, distribución y eliminación (metabolismo y excreción); tales modelos pueden ser empleados para seleccionar un régimen de dosificación que dé como resultado la obtención de niveles sanguíneos del fármaco en el rango terapéutico, con variaciones mínimas, dando así un manejo más racional de los pacientes epilépticos en éste caso, evitando la posible intoxicación por sobredosis del fármaco.

4.1 Absorción.

La difenilhidantoína se absorbe perfectamente del tubo gastrointestinal (31,49) y es recirculada por la vía biliar; de este modo, los niveles en sangre no reflejan exactamente la absorción de ésta. La excreción biliar puede ser un factor en su prolongada absorción; además, puede explicar la variación obtenida de los niveles en plasma después de una dosis oral y a su vez la lenta desaparición, ya que presumiblemente algo de la DFH ha sido recirculada y reabsorbida del tubo gastrointestinal (31,100).

La máxima concentración en sangre (C_p max) se alcanza entre las 8 y 12 horas, cuando se dá en una sola dosis oral (29,31).

4.2 Distribución.

Una vez absorbida del tubo gastrointestinal se distribuye rápidamente por la sangre, logrando una mayor concentración en los tejidos que en el plasma. La concentración de la DFH es menor en cerebro, grasa y músculo esquelético comparada a la hallada en el hígado, riñón y glándulas salivales; - también es más lenta la velocidad de entrada a aquellos órganos en comparación con éstos últimos (100).

Se une a las proteínas plasmáticas en un 90-99% (31 , 121); además, se ha encontrado en los glóbulos rojos, en concentraciones similares a las encontradas en plasma (31). El fluído cerebroespinal y la saliva contienen alrededor del - 30% de la concentración en suero y se ha encontrado también en la leche materna (13).

Para lograr una concentración constante del fármaco - en sangre es necesario conocer su volumen aparente de distribución y su eliminación. El volumen aparente de distribución de la DFH en un paciente epiléptico es de 39.2 L ó 0.83 L/Kg y para individuos normales es de 54.3 L ó 0.72 L/Kg. En la TABLA I, se muestran éstos datos, además, de otros parámetros derivados del análisis farmacocinético realizado por Atkinson y Shaw (8).

Además se ha reportado un gran volumen de distribución en niños (edad de 2 a 96 semanas), con un promedio de - 0.80 L/Kg (48), y se ha encontrado también una gran variabilidad en el volumen de distribución en niños de 6 meses a 6 años, y una menor unión a las proteínas plasmáticas (20).

4.3 Metabolismo.

Woodbury y Kemp (100), realizaron estudios sobre el - metabolismo de la DFH en rata. Encontraron que es rápidamente metabolizada por el hígado, oxidándose a nivel de uno de

TABLA I. Resultados del análisis farmacocinético de la DFH en un paciente epiléptico y en pacientes normales (ref.8).

Sujetos	Peso(kg)	V_d(L)'	Vmax(μg/ml/día)'	Km(μg/ml)'
Paciente G.Y.	47.3	39.2±42%	10.9±10%	14.5±12%
Normales	75.0	54.3±7%	16.3±78	14.4±80%

' Valor ± CV.

Donde:

V_d: Volumen de distribución.

Vmax: Velocidad máxima de eliminación de la DFH.

Km: Constante aparente de Michaelis-Menten para el proceso de eliminación de la DFH.

los grupos fenilo (p-hidroxilación), por una reacción gobernada por las enzimas de los microsomas hepáticos; posteriormente, éste compuesto se conjuga con el ácido glucurónico, siendo entonces rápidamente excretado en la bilis hacia el intestino; desde ahí vuelve a absorberse en forma conjugada hacia la circulación sistémica, para finalmente ser eliminado por el riñón. Una fracción del fármaco inalterado entra al intestino por medio de la bilis, y alrededor de un 6% entra por medio de la saliva y probablemente por secreciones pancreáticas e intestinales. En solo unos cuantos minutos se excretan fracciones de la DFH y de sus metabolitos en las heces, cuando es inyectada intravenosamente; sin embargo, cuando se administra oralmente, aproximadamente un 10% de la DFH inalterada es excretada por dicha vía. El fármaco inalterado y sus metabolitos farmacológicamente inactivos se absorben del tubo gastrointestinal hacia la sangre y algunos son excretados en la orina o distribuidos en los diferentes órganos. En la Figura 2 se muestra su estructura y la de sus metabolitos.

En 24 horas, 50% del material metabolizado está presente en el tubo gastrointestinal y 50% en la orina; en 48 horas 93% es excretado en la orina y solo un 5% de la dosis inyectada es excretada como DFH inalterada; la mayor parte de ésta fracción es derivada del fármaco inalterado secretado al tubo gastrointestinal y reabsorbido nuevamente en la sangre (100).

Chang et al.(22), realizaron estudios del metabolismo en hombres adultos, utilizando DFH doblemente mareada. La mayor parte de la actividad de C^{14} en plasma era DFH y un 3% era p-HFFH (5-(p-hidroxifenil)-5-fenilhidantoína) conjugado. La excreción de C^{14} en promedio es de 82% de la dosis en orina y 5% en las heces.

Datos similares han sido reportados por Buchanan et al.(11), también con hombres caucásicos adultos, edad de 26 a 48 años; 70% de una dosis de DFH se recobra como p-HFFH y

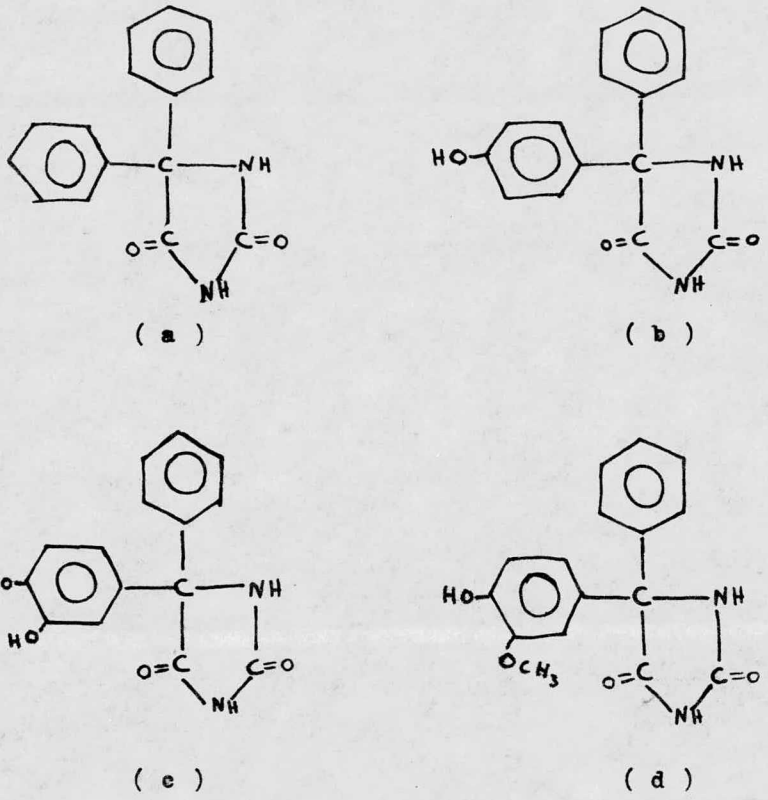


Figura 2. Estructura de la DFH y sus metabolitos: a) Difenilhidantoína, b) p-HFFH (5-(p-hidroxifenil)-5-fenilhidantoína, metabolito principal, c) 5-(3,4-dihidroxifenil)-5-fenilhidantoína, metabolito catecol, d) 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil-5-fenilhidantoína, metil catecol (refs. 44,61).

un 1.35-1.96% como DFH inalterada. Glazko et al. (29) reportan un 76% de p-HFFH en orina, dando DFH a hombres adultos sanos.

4.4 Exereción.

La difenilhidantoína es exeretada por el riñón (10,11, 100). Chang et al. (22), realizaron estudios de cromatografía en placa fina de orina previamente tratada con beta-glucuronidasa; los autores encontraron la presencia del p-HFFH, su principal metabolito en 68-81%, 7-11% de dihidrodiol, 3-6% - no conocido (en su origen), 2-5% del metabolito 3-O-metil catecol, 1-2% de DFH inalterada y alrededor de 1% del metabolito 3,4-dihidroxifenilo.

Boehner et al. (10), estudiaron la depuración renal de la DFH y p-HFFH, éste último conjugado con el ácido glucurónico; encontraron que la renal de la DFH es de 3 a 23 ml/min dependiendo de la velocidad de flujo de la orina; esto sugiere que probablemente sufre una reabsoreión neta en su paso a través del riñón. La depuración renal del p-HFFH fué de 76 a 420 ml/min dependiendo también de la velocidad de flujo de la orina; éste valor excede la velocidad de la filtración -- glomerular, explicable por secreción tubular; cabe creer en la posibilidad que la secreción neta de la DFH ocurre a través de las nefronas.

Los procesos de biotransformación y exereción son lentos como lo demuestra la vida media plasmática, con un valor promedio de 22 ± 9 horas y un rango de 7.2 a 42 horas (7); - éste valor depende de una serie de factores individuales. De la vida media de la DFH resulta su acumulación en el organismo con dosis repetidas.

La vida media de la DFH en plasma es dependiente de - la dosis (7). Posibles mecanismos que explican ésto son: la saturación enzimática que está limitada por la velocidad de reacción del sistema de microsomas hepáticos; la autoindue--

ción o inhibición de producto (inhibición de sustrato), simples o en combinación con el sistema fármaco-enzima; éstas posibilidades involucran una desaparición no exponencial y por lo tanto la desaparición de la DFH no siempre es un proceso de primer orden.

Gugler et al.(30), realizaron estudios de la farmacocinética de una dosis intravenosa, y de una y varias dosis orales; los datos de concentración en sangre después de la administración intravenosa, se describen mediante un modelo abierto de dos compartimentos, basado en la ecuación general (1):

$$Y = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} \qquad \text{Ec. 1}$$

donde: A y B son los interceptos en "Y" de la línea de regresión semilogarítmica de la primera y segunda pendientes; α y β son las constantes de disposición rápida y lenta, respectivamente. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos de la dosis i.v., se muestran en la TABLA II. Estos parámetros han sido calculados suponiendo que el curso temporal de la DFH en sangre sigue una cinética de primer orden.

Kostenbauder et al.(42), reportaron otro estudio con datos descritos por un modelo abierto de dos compartimentos para una administración intravenosa de 250 mg y un modelo de un compartimento para una administración intramuscular de 500 mg. La Figura 3 y la TABLA III nos muestran los resultados para la administración intravenosa. Los datos fueron ajustados a la ecuación diferencial que describe el modelo abierto de dos compartimentos por un programador SAAM-23, con una administración intravenosa de orden cero.

Una representación de éste modelo es la siguiente:

TABLA II. Parámetros farmacocinéticos derivados de la administración de una dosis intravenosa, única de DFH (300 mg)(ref.30).

Sujeto	A ($\mu g/ml$)	α (hr^{-1})	$t_{\frac{1}{2}}\alpha$ (hr)	B ($\mu g/ml$)	β (hr^{-1})	$t_{\frac{1}{2}}\beta$ (hr)	Cl_p (L/Kgxhr)	V_β (L/Kg)
RG.	7.1	0.976	0.71	6.9	0.051	13.5	0.028	0.57
CM.	13.1	3.465	0.20	7.1	0.041	17.0	0.021	0.46
BC.	3.2	0.563	1.23	8.4	0.039	18.0	0.018	0.48
CJ.	4.3	1.690	0.41	6.5	0.034	20.3	0.017	0.51
NW.	2.4	0.806	0.86	6.4	0.035	20.0	0.018	0.56
JC.	7.1	1.824	0.38	6.2	0.057	12.1	0.030	0.56
Prom.	6.2	1.554	0.63	6.9	0.043	16.8	0.022	0.52
DEM	1.5	0.395	0.14	0.3	0.003	1.3	0.003	0.01

Nota:
A es el intercepto extrapolado a tiempo cero de la pendiente α; α es la constante de velocidad del proceso exponencial rápido; $t1/2\,\alpha$ es la vida media de la pendiente α ; B es el intercepto extrapolado a tiempo cero de la pendiente β; β es la constante de eliminación del proceso exponencial más lento; $t1/2\beta$ es la vida media más lenta en plasma; Cl_p es la depuración plasmática; V_β es el volumen de distribución beta.

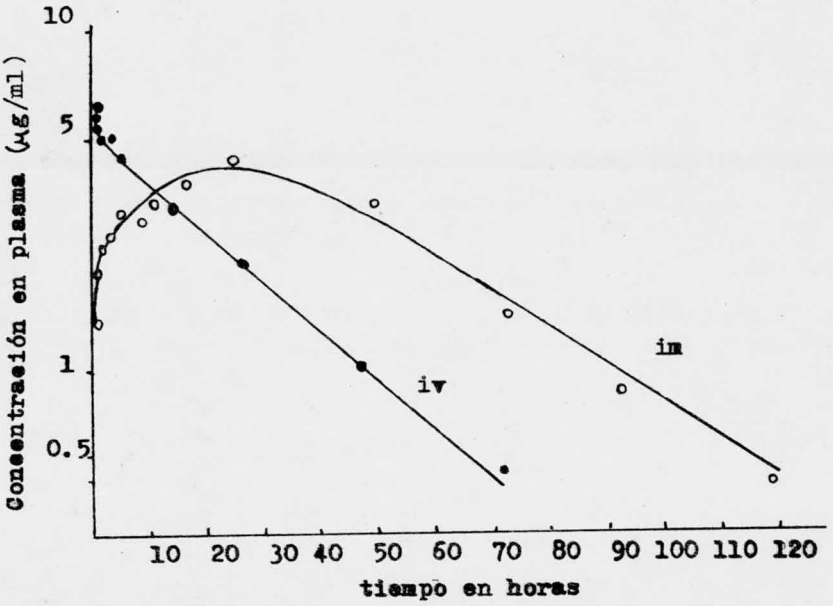


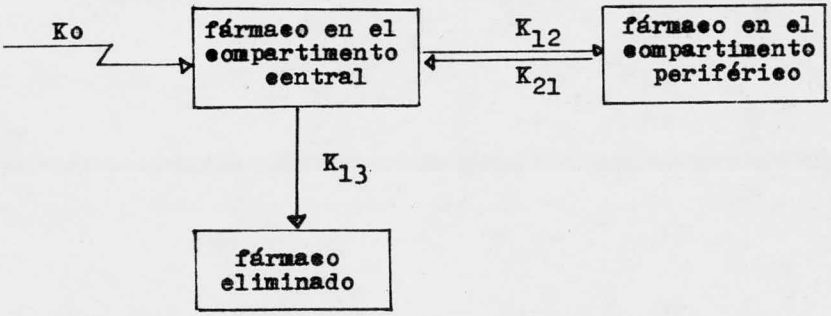
Figura 3. Concentración promedio en plasma de la DFH, en 12 individuos que recibieron dosis de 250 mg de DFH-Na, iv(•), ó 500 mg de DFH-Na, im(o). Las líneas representan los datos ajustados a un modelo (ref. 42).

TABLA III. Parámetros farmacocinéticos de la DFH, de una administración intravenosa (ref.42)

	Parámetros ajustados # a la concentración promedio plasmática	Parámetros promedio + ajustados a los datos de cada individuo.
K_{12}	2.00 hr^{-1} (1.78-2.22)	2.75 hr^{-1} (2.53)
K_{21}	2.28 hr^{-1} (2.06-2.50)	2.70 hr^{-1} (2.51)
K_{13}	0.0718 hr^{-1} (0.0677-0.0759)	0.0793 hr^{-1} (0.0298)
V_c	24.18 L (23.59-24.77)	26.10 L (10.10)
$V_{d\beta}$	45.72 L	45.72 L
β	0.0379 hr^{-1}	0.0401 hr^{-1} (0.0099)
$t_{1/2}$	18.3 hr	(4.6)

el paréntesis indica aproximadamente el 90% del intervalo de confianza (no varianza).

+ el paréntesis indica valores de DE.



donde: Ko es la velocidad de absorción de orden cero para la administración intravenosa; K_{12} y K_{21} son las constantes de velocidad de primer orden de transferencia entre los compartimentos; K_{13} es la constante de velocidad de primer orden para la eliminación del compartimento central.

Los resultados obtenidos para la administración intravenosa son descritos adecuadamente por el modelo; sin embargo, dicho modelo tampoco incorpora el metabolismo no lineal de la DFH que se halla en concentraciones plasmáticas mayores que las encontradas en éste estudio (7).

Otros investigadores han realizado independientemente estudios de la cinética no lineal de la DFH en pacientes con sobredosis (8,27,28), estudios que, además, sugieren métodos para ajustar la terapia a un régimen estándar (53,58).

Atkinson y Shaw (8), estudiaron la eliminación de la DFH con una cinética del tipo de Michaelis-Menten, aprovechando una velocidad constante a altas concentraciones plasmáticas (cinética aparente de orden cero) y una velocidad proporcional a los niveles en plasma a bajas concentraciones (cinética aparente de primer orden). Emplearon un modelo de un compartimento y empíricamente seleccionaron una ecuación de Michaelis-Menten de cinética enzimática. El modelo de ecuación diferencial que describe la variación en la concentración de la DFH en plasma, está expresado por la ecuación(2):

$$\frac{d\ DFH}{dt} = - \frac{V\ max}{Km + DFH} \quad DFH + \frac{D}{V_D} \qquad \text{Ec. 2}$$

donde: V max representa la velocidad máxima de eliminación - de la DFH en µg/ml/día, Km es la constante aparente de Michaelis-Menten para el proceso de eliminación , D es la dosis - diaria y V_D el volumen aparente de distribución; asumiendo una completa absorción de la DFH administrada.

Cuando el valor de Km es más grande que la concentración la ecuación (2) puede aproximarse por la ecuación (3):

$$\frac{d\ DFH}{dt} = - \frac{V\ max}{Km} \quad DFH + \frac{D}{V_D} \qquad \text{Ec. 3}$$

donde: V max y Km son constantes; de éste modo y bajo éstas condiciones la DFH parecería ser eliminada por una cinética de primer orden.

Cuando la concentración en plasma es mucho más grande que Km, la ecuación (1) se reduce a la ecuación (4):

$$\frac{d\ DFH}{dt} = - V\ max + \frac{D}{V_D} \qquad \text{Ec. 4}$$

y la eliminación parecería seguir una cinética de orden cero. Los datos experimentales se analizaron en términos del modelo definido por la ecuación (2), empleando una computadora - programada para el análisis de regresión. Estos datos son de un paciente con sobredosis y se muestran en la TABLA I. El - modelo puede ser usado para considerar causas posibles de - su toxicidad; además, restaura el concepto de cinética de -- eliminación dependiente de la dosis en términos cuantitativos, que pueden ser de valor como guía de predicción en la - terapia con éste fármaco (8).

Garrettson y Jusko (27), reportaron un estudio farmacocinético, en el que emplean el modelo de cinética no lineal que describe los parámetros de distribución, metabolismo y excreción en niños, comparados con datos de adultos de otros autores. Los resultados se muestran en la TABLA IV, donde se observa una tendencia hacia los valores relativamente bajos de Km y valores altos de V max / Km en los niños.

Estos estudios (8,27,28,53,58), además de que proveen bases farmacocinéticas para la comprensión de la cinética de eliminación de la DFH en pacientes epilépticos, apoyan el hecho de que está expuesta al tipo de cinética saturable de Michaelis-Menten.

Modificaciones futuras en el modelo farmacocinético de la DFH en el hombre requieren conocimientos más precisos acerca de su biodisponibilidad. Jusko et al.(39), reportan un análisis farmacocinético no lineal de la biodisponibilidad de éste fármaco que puede ser aplicado fácilmente cuando existen diferencias en las cantidades absorbidas de diferentes formulaciones que la contengan.

U.N.A.M. BIBLIOTECA

TABLA IV. Parámetros farmacocinéticos de la distribución y eliminación de DFH en niños y adultos (ref.27).

Sujeto	V_{max} (mg/Kg/día)	V_{max}/V_d (mg/L/día)	K_m (mg/Kg)	K_m/V_d (mg/L)	Cl_p (ml/min)	V_d (L/Kg)	V_{max}/K_m ($día^{-1}$)	Mínimo' $t_{\frac{1}{2}}$ (hr)
Niños								
1	6.43	6.22	2.30	2.22	0.167	1.03	2.80	5.9
2	4.48	14.54	1.46	4.75	0.041	0.308	3.06	5.4
3	4.80	9.28	1.14	2.21	0.064	0.517	4.21	4.0
4	5.33	4.22	1.84	1.45	0.054	1.26	2.90	5.7
5	10.79	13.47	8.55	10.68	#	0.801	1.26	13.2
Media	6.37	9.55	3.06	4.55		0.783	2.85	6.8
Adultos"								
I.	3.80	4.73	4.00	4.98	#	0.803	0.949	17.5
JS.	6.19	7.60	2.94	3.62	#	0.814	2.10	7.9
WLW.	4.31	5.87	4.76	6.48	#	0.734	0.906	18.4
GH.	4.30	5.61	5.03	6.56	#	0.767	0.854	19.5
WFW.	5.20	6.86	4.27	5.64	#	0.757	1.22	13.7
Media	4.76	6.13	4.20	5.64		0.775	1.21	15.4

' Cuando $C_p << K_m/V_d$

Valores supuestos como 0.05, porque la DFH no fue medida en orina.

" Los pesos de los adultos se han supuesto ser de 70 Kg para propósitos de comparación.

CAPITULO V. BIODISPONIBILIDAD

Los fármacos de acción sistémica deben alcanzar la circulación general en su forma farmacológicamente activa, distribuirse en el cuerpo y ejercer su efecto terapéutico. Se asegura la entrada total a la circulación general sólo cuando el fármaco es inyectado intravenosamente. Por otras rutas de administración, particularmente la oral, frecuentemente aparece en el sistema circulatorio solo alguna fracción del fármaco administrado; por esto resulta necesario conocer la relación entre dosis de fármaco e intensidad de acción.

El estudio de la Biodisponibilidad de un fármaco, a partir de una forma farmacéutica, nos permite conocer el por ciento de fármaco que entra a la circulación en relación a la dosis administrada y la velocidad con que esto sucede(79). Un fármaco administrado en diferentes formas farmacéuticas, o por diferentes vías de administración, puede por tanto mostrar diferencias en el inicio e intensidad del efecto farmacológico; además de la formulación farmacéutica, otros factores que afectan la biodisponibilidad, son las características individuales de cada paciente, la interacción con otras sustancias en el tubo gastrointestinal y las características propias del fármaco.

En muchas ocasiones es difícil cuantificar la eficacia clínica de un medicamento debido a que el efecto clínico a medir presenta límites difusos, o depende de una evaluación subjetiva. Además, existe una gran variabilidad entre las respuestas de un paciente a otro; por lo tanto, para estudiar la eficacia relativa de productos diferentes mediante la determinación de efectos clínicos, se requieren estudios en un gran número de pacientes o voluntarios para poder probar, por ejemplo con un 95% de seguridad, que una formulación da una respuesta mayor que otra; de esta manera, los estudios clínicos son tardados y extremadamente costosos.

Los estudios de disponibilidad fisiológica (Biodisponibilidad) en el hombre empleando mediciones de concentraciones en sangre y/o excreción urinaria del fármaco intacto y/o metabolitos, son menos costosos y mucho más rápidos y si dichos estudios se planean adecuadamente, se pueden realizar y evaluar apropiadamente, pudiendo revelar la verdadera eficacia relativa de dos o más medicamentos.

La bioequivalencia es la comparación de la biodisponibilidad de dos o más formulaciones diferentes del mismo principio activo, una de las cuales se acepta como patrón de referencia.

5.1 Biodisponibilidad a partir de datos de concentración de fármaco en sangre.

Se puede determinar mediante tres parámetros que describen una curva de niveles sanguíneos después de una administración, permitiendo la comparación y evaluación de la bioequivalencia de diferentes formulaciones del mismo fármaco; éstos parámetros son: 1) el máximo de la concentración en sangre, 2) el tiempo al cual aparece éste, 3) el área bajo la curva de concentración sanguínea contra tiempo.

Albert et al.(4) realizaron estudios cruzados en cuadrados latinos en ocho individuos (cuatro grupos con dos individuos cada uno), ordenados de acuerdo a su peso, con cuatro formulaciones diferentes. Cada individuo recibió tres dosis de 100 mg y una de 300 mg de DFH sódica por vía oral, con intervalos de dos semanas entre cada dosis. El tratamiento A consistió en la administración de una solución acuosa de una cápsula de 100 mg, disuelta en una mezcla de 10 ml de etanol al 95%, 35 ml de propilénglicol, 40 ml de jarabe de coca-cola y 40 ml de solución reguladora de fosfatos; el tratamiento B consistió en la administración de cápsulas de 100 mg de un producto innovador; el tratamiento D consistió en la administración de cápsulas comerciales de 100 mg y el tra

tamiento C consistió en la administración de tres cápsulas - juntas de 100 mg del producto innovador. Se siguió este protocolo para determinar si influye la cinética dependiente - de la dosis en la biodisponibilidad en el rango terapéutico de 100 a 300 mg. La Figura 4 muestra los resultados del análisis de la concentración promedio (n=8), en plasma contra - tiempo. La TABLA V, muestra los parámetros farmacocinéticos derivados de los datos de niveles en plasma.

En el análisis de éstos datos, se observan diferencias altamente significativas entre los promedios de la máxima concentración sanguínea, el tiempo para lograrla y las áreas bajo las curvas (ABC). La DFH en solución se absorbió más rápidamente (tratamiento A), que la DFH en las cápsulas innovadoras (tratamiento B). Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en las ABC obtenidas con los tratamientos B y D; la biodisponibilidad de la DFH en las cápsulas del producto innovador comparada con las cápsulas comerciales indicó que son bioequivalentes y que las diferencias de formulación no tienen efecto en la biodisponibilidad de éstos medicamentos probados. Además éste estudio permitió observar la farmacocinética lineal de la DFH, dentro del rango terapéutico de 100 a 300 mg.

Sin embargo, éstos resultados de bioequivalencia no - implican que otras cápsulas o algunas otras formas farmacéuticas de DFH, producidas por las mismas o por diferentes compañías, provean los mismos resultados satisfactorios en el - hombre (53,54,73).

Tal es el caso reportado por Pentikäinen et al.(73), quienes evaluaron cuatro diferentes formulaciones de DFH ácida, en forma de comprimidos, tomando una sola dosis de 600 - mg; se empleó una suspensión micronizada (tamaño de 1-2 μm) de DFH como patrón de referencia. Se encontraron diferencias significativas entre las formulaciones; los comprimidos probados fueron a) Enkefal, b) Difhidan, c) Dihidantoína, d) Hidantin, todos de 0.1 g . Las curvas de concentración en sue-

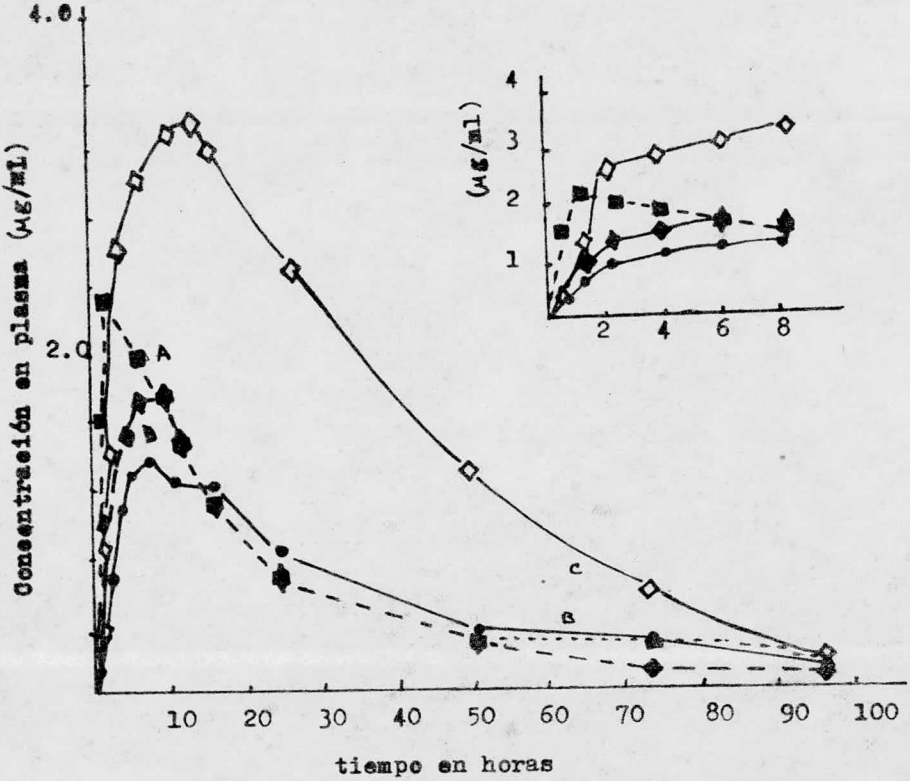


Figura 4. Niveles promedio de DFH en plasma en 8 individuos, - después de cuatro tratamientos orales. La figura insertada muestra una extensión de 0 a 8 horas. ■ - A, ● - B, ◇ - C, ◆ - D (ref. 4) .

TABLA V. Parámetros farmacocinéticos de la DFH derivados de los datos de concentración contra tiempo y sus correspondientes coeficientes de variación (ref.4).

	Valor del parámetro y coeficiente de variación en por ciento.			
Parámetro	Trat. A	Trat. B	Trat.C	Trat. D
Máxima concentración sanguínea en (μg/ml)	2.42 (14.3)+	1.48 (29.3)	3.52 (25.4)	1.80 (15.0)
Tiempo al cual aparece el máximo (hr)	1.63 (65.3)	6.63 (63.0)	6.0 (56.3)	4.50 (46.0)
Area 0 -- 96 hr (μg/ml x hr)	46.5 (38.3)	47.0 (58.3)	132 (36.8)	41.3 (32.3)
Area 0 -- oo (μg/ml x hr)	49.1 (40.8)	49.2 (57.5)	134 (38.5)	41.8 (32.6)

+ Los valores de los paréntesis son los coeficientes de variación promediados en por ciento (desviación estándar/promedio) x 100.

ro se presentan en la Figura 5 y las áreas bajo las curvas - de concentración en suero contra tiempo en la TABLA VI. El - promedio de las áreas bajo las curvas siguiendo la administración de los comprimidos fué de 26% para B, de 59% para D, 68% para A y 90% para C, con respecto al patrón de referencia E; la concentración máxima en suero producida por las diferentes formulaciones se presenta en la TABLA VII. El análisis de varianza muestra diferencias significativas entre los comprimidos ($p < 0.05$). El tiempo para lograr la máxima concentración con las diferentes formulaciones varía, de 5.2 a 12.3 horas, pero éstas diferencias no tuvieron significancia estadísticamente. Se encontró una correlación significativa ($r = 0.79$, $p < 0.001$) entre la máxima concentración y el área bajo la curva, que se muestra en la Figura 6; por otro lado, no se encontró correlación significativa entre el tiempo al cual aparece el máximo y el área bajo la curva ($r = 0.007$, - $p > 0.1$).

Melikian et al.(55), reportaron un estudio llevado a cabo en 11 productos, cápsulas de 100 mg, elaboradas por 8 - diferentes compañías. Encontraron diferencias significativas estadísticamente en los parámetros de máxima concentración - sanguínea, tiempo para lograrla,el ABC. En la TABLA VIII, se muestran éstos parámetros tomando como patrón de referencia las cápsulas innovadoras; la concentración en plasma contra tiempo se ilustra en las Figuras 7 y 8. De los dos grupos -- formados, en el grupo 1, el producto dos produjo valores promedio menores, en los parámetros farmacocinéticos evaluados; éste producto fué significativamente más bajo ($p < 0.05$); las diferencias entre las cápsulas innovadoras y los otros cinco productos no fueron significativas. En el grupo 2, las cápsulas innovadoras fueron significativamente más bajas que los demás productos con respecto a los niveles en plasma a las - 10 horas; el producto 6 difiere de dos ó tres productos después de 4 horas; los productos 2,3,4 y 5 fueron significati-

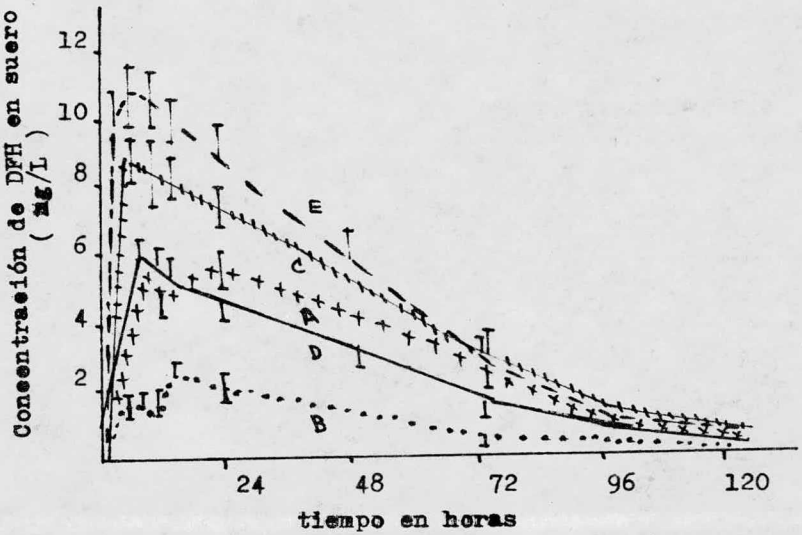


Figura 5. Curvas de concentración de DFH en suero contra tiempo. Estudio cruzado en 6 voluntarios después de la administración de una dosis oral de 600 mg de DFH, en cinco diferentes preparaciones. Promedio ± DE, A =Enkefal, B= Difhidan, C= Dihidantoína, D= Hidantin, E= Suspensión de referencia (ref.73).

TABLA VI. Areas bajo las curvas (ABC) de C_p - t, de 0 a 120 hr en seis voluntarios, después de la administración de una dosis oral de 600 mg de DFH, en cinco diferentes formulaciones(ref.73).

Producto[+]	ABC" ($mgxhrxL^{-1}$)	% de E
A	327 ± 33	68
B	124 ± 20	26
C	429 ± 44	90
D	283 ± 44	59
E	480 ± 66	100

+ A= Enkefal tabletas, B= Difhidan tabletas, C= Dihidantoína tabletas, D= Hidantin tabletas, E= Suspensión de referencia,

" Promedio ± DE.

TABLA VII. Concentración máxima de DFH en suero y tiempo para alcanzarla, en seis voluntarios después de la administración de una dosis oral de 600 mg de DFH, en cinco formulaciones diferentes (ref.73).

Producto	Máxima concentración sérica de DFH (mg/L)	% de E	Tiempo para alcanzar la concentración máxima. (hr)
A	6.3 ± 0.5"	55	12.2 ± 3.9
B	2.7 ± 0.2	24	12.3 ± 3.9
C	9.1 ± 1.5^{+}	80	5.2 ± 1.4
D	6.1 ± 0.5"	54	7.8 ± 3.2
E	11.4 ± 1.0^{+}	100	7.2 ± 1.1

A = Enkefal, B = Difhidan, C = Dihidantoína, D = Hidantoína, E = Suspensión de referencia.

+ Significativamente más alto que A, B y D ($p < 0.05$).

" Significativamente más alto que B ($p < 0.05$).

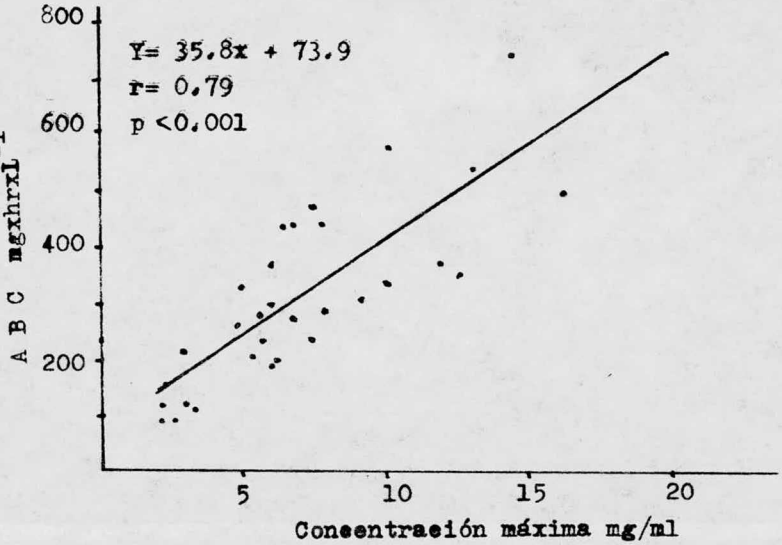


Figura 6. Relación entre la concentración máxima en suero de DFH y el ABC-tiempo, en seis voluntarios después de la administración de 600 mg de DFH con cinco diferentes formulaciones(ref.73).

TABLA VIII. Promedio del tiempo al cual aparece la concentración máxima, el nivel máximo en plasma, ABC contra tiempo, a partir de los diferentes productos de DFH (ref.55).

Producto No.	Tiempo al[#] cual aparece la máxima conc. (hr)	Concentración máxima. (µg/ml)	% Relativo al nivel del producto No.1	ABC (µg/ml) (hr)	% de ABC (relativo al producto No.I)
Grupo 1					
1	5.2(0.9)	1.11(0.15)	100.0	32.61(4.97)	100.0
2	5.7(1.1)	0.93(0.11)	83.7	30.08(4.80)	92.3
3	3.7(0.9)	1.33(0.08)	120.3	35.73(4.41)	109.6
4	3.4(0.7)	1.32(0.17)	120.0	35.79(6.60)	109.8
5	4.4(0.6)	1.40(0.10)	126.1	34.39(2.33)	105.5
6	4.1(0.6)	1.27(0.09)	114.2	32.85(4.74)	100.7
Grupo 2					
1	5.7(1.2)	0.93(0.08)	100.0	29.20(2.95)	100.0
2	2.7(1.2)	1.21(0.09)	130.2	30.84(3.27)	105.6
3	3.4(0.4)	1.39(0.11)	149.3	38.28(2.95)	131.1
4	2.6(0.5)	1.44(0.14)	154.9	32.89(3.43)	112.7
5	3.5(0.5)	1.32(o.12)	141.7	35.61(2.84)	121.2
6	6.0(1.1)	1.06(0.09)	113.7	34.23(3.29)	117.2

[#] Promedio de datos de seis individuos; error estándar en paréntesis.

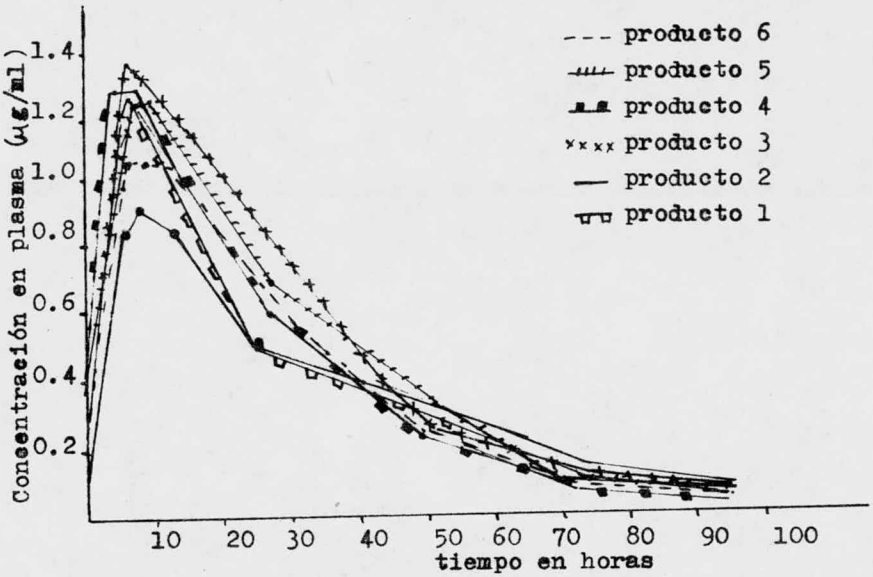


Figura 7. Niveles en plasma promedio de DFH, grupo 1. Cada punto representa el promedio de seis individuos (ref.55).

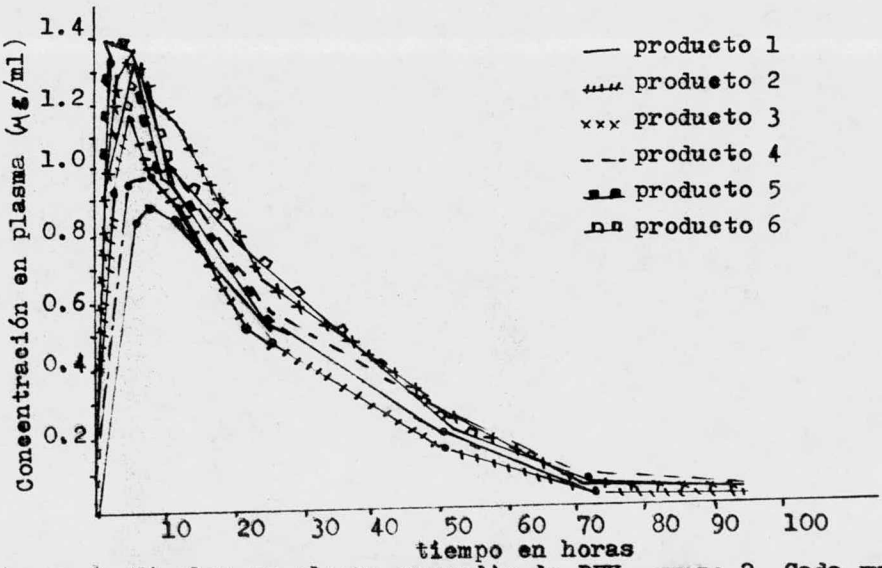


Figura 8. Niveles en plasma promedio de DFH, grupo 2. Cada punto representa el promedio de seis individuos (ref.55).

vamente más altos ($p < 0.05$), en el promedio del nivel máximo, con respecto al patrón de referencia y los productos 3 y 5 - presentan el área bajo la curva más alta, respecto a éste -- mismo.

Katz et al.(43) reportan otro estudio realizado con - una preparación local (Idantoin), comparada con las cápsulas innovadoras (Dilantin Kapseals). Se encontró que ambas formulaciones son bioequivalentes.

5.2 Biodisponibilidad a partir de datos de excreción urinaria del fármaco.

También datos de excreción urinaria permiten determinar la biodisponibilidad de fármacos excretados inalterados en gran cantidad en la orina; se obtienen muestras de orina y se mide el volumen y la concentración del fármaco en ellas. Idealmente la orina puede ser recolectada a tiempos diferentes y determinar las concentraciones del fármaco, ya que algunas veces la cantidad de fármaco excretado es mayor que la cantidad en suero; utilizando ambas pruebas (suero y orina), los datos obtenidos proveen información más definitiva.

Gugler et al.(30), evaluaron dos preparaciones, una - oral y otra intravenosa; determinando la biodisponibilidad, el área bajo la curva y la excreción urinaria del principal metabolito de la DFH, el p-HFFH; después de dosis únicas y - dosis múltiples orales y una dosis intravenosa. Los resultados se pueden observar en la TABLA IX. La biodisponibilidad de la DFH por vía oral fué de 69.9% (57.7-85.6), determinada por comparación del ABC de 0 a oo de la dosis intravenosa -- con la oral para cada individuo. La comparación del ABC de - las dosis múltiples dió un promedio de 85.95% (71.8-106.3); la cantidad de p-HFFH excretado de 0 a 48 horas después de - una dosis oral es de 81.3% (70.6-87.9), de la cantidad de -- p-HFFH encontrado después de la dosis intravenosa ($p < 0.01$).

TABLA IX. Biodisponibilidad de la DFH y exereción urinaria de p-HFFH hasta la 48ava. hora (ref.30).

	ABC ($\mu g.hr.ml^{-1}$)			Biodisponibilidad (%)		Exereción de p-HFFH en 48 hr		
Indi-viduo	dosis iv (0-oo)	dosis oral (0-oo)	dosis mult.0 (0-24hr)	dosis 0/iv	dosis 0 mult./ iv	(mg) iv	0	relación 0/iv
RC.	146.5	101.9	109.8	69.6	74.9	160	126	0.788
CM.	192.0	164.4	137.3	85.6	71.8	150	128	0.853
BC.	233.5	164.6	181.5	70.4	77.7	211	156	0.739
CJ.	196.5	147.1	187.0	74.9	95.2	232	204	0.879
NW.	195.3	119.5	207.7	61.2	106.3	202	173	0.856
JC.	113.7	65.9	101.4	57.7	89.2	180	127	0.706
prom	173.6'"	127.2'	154.2"	69.9	85.9	189#	152	0.813
EEM	15.8	14.6	18.0	3.7	5.5	11	12	0.027

ABC 0--oo ; Area bajo la curva de concentración en plasma contra tiempo, calculada de tiempo cero a infinito.

ABC 0--24 ; Area bajo la curva de concentración en plasma contra tiempo, calculada durante un intervalo de dosis.

' $p < 0.01$, " $p > 0.05$, # $p < 0.05$

La variación en la biodisponibilidad y eliminación de la DFH no permite en éste caso, predecir con exactitud la concentración en plasma en el estado estacionario.

Smith et al.(89) compararon los niveles en plasma y orina después de la administración oral de cápsulas y comprimidos. Se encontraron efectos terapéuticos equivalentes y los niveles en plasma no difirieron significativamente (excepto a las 8 y 12 horas), así como el ABC ; ésto indica que fueron absorbidas cantidades equivalentes de cada formulación. Por datos de orina, el p-HFFH confirmó la absorción equivalente a partir de ambas formulaciones.

Evidencias clínicas (16,42), sugieren que la DFH es posiblemente absorbida lenta e incompletamente después de una administración intramuscular; sin embargo, ésta vía ofrece algunas ventajas cuando los pacientes están imposibilitados para tomar el fármaco oralmente. En ausencia de datos de velocidad y grado de absorción, Kostenbauder et al.(42), realizaron una evaluación comparando una administración intramuscular con una intravenosa. Los resultados indican que la DFH por vía i.m., es absorbida en un término de 5 días; un 22.5% es rápidamente absorbido dentro de los primeros 30 min y un 20% de la dosis todavía no es absorbida después de 40 horas. Se analizó la biodisponibilidad de la DFH i.m., comparando el ABC de los niveles plasmáticos contra tiempo, con la cantidad del metabolito excretado; ésto se ilustra en la Figura 3 y en la TABLA X. Los datos indican concordancia, aunque existe variación de un individuo a otro; el ABC indica un promedio de 94.9% de la disponibilidad de la DFH y los datos del p-HFFH un promedio de 91.6%; sin embargo, después de realizar un análisis de varianza, no se encontraron diferencias significativas entre la disponibilidad de la administración intravenosa con la intramuscular. No obstante, es conveniente diseñar un régimen de dosis que permita controlar la concentración inicial en plasma, cuando se selecciona

TABLA X. Disponibilidad de la DFH i.m., determinada a partir de la curva de concentración contra tiempo y de la excreción urinaria del metabolito p-HFFH (modificada de la ref. 42).

	Disponibilidad ABC_o^{oo}			Disponibilidad $A_{ex.}^{120}$ p-HFFH		
Promedio de 12 individuos.	Area (µgxhr/ml) dosis iv 250 mg	dosis im 500 mg	Disponibilidad. áreaimx100% / 2 x área iv	p-HFFH excretado dosis iv. 250 mg	dosis im. 500 mg	Disponibilidad p-HFFHim. x100% / 2 x p-HFFH iv.
$\bar{X}$	149.7	280.5	94.9	187.6	341.8	91.6
DE	37.5	72.9	15.3	19.6	59.4	17.6

ABC_o^{oo} = Area bajo la curva de C_p-vs-t, desde t=0 a t=oo=$\int_o^{oo} C_p dt$= =$\int_o^{oo} C_p dt = C_p^{t'}/\beta$ =48 hrs de estudio iv, 120 hrs de estudio im.
A_{ex}^{120} = Cantidad acumulada excretada, desde t=0 a t= 120 hrs.
$C_p^{t'}/\beta$ = Area de t' a infinito.

la vía intramuscular.

5.3 Factores que influyen en la Biodisponibilidad.

Neuvonen et al.(65), compararon la biodisponibilidad de siete formulaciones diferentes; dos suspensiones y cinco formulaciones de tabletas, presentando algunos posibles factores que influyen en las diferencias de biodisponibilidad encontradas en éstas formulaciones. El tamaño de partícula es un factor, ya que la mayor disponibilidad encontrada en éste estudio, fué la de la suspensión micronizada, con un tamaño de partícula de 1-2 µm de DFH ácida; otro factor es el tiempo de desintegración de los diferentes productos (TABLA XI); sin embargo, no se encontró relación entre éste y la absorción gastrointestinal. La velocidad de disolución es otro factor; en la Figura 9 se muestran los perfiles de disolución in vitro de los productos estudiados; se encontró una relación significativa ($r = 0.93$, $p < 0.01$) entre el área bajo la curva y la velocidad de disolución in vitro como puede observarse en la Figura 10.

Se han dado otras explicaciones acerca de las causas de las diferencias de biodisponibilidad de la DFH en diferentes formulaciones (43,80), tales como la naturaleza de los excipientes, casos de pacientes que no obedecen las indicaciones dadas y fallas en la dosificación individual. La administración no adecuada del medicamento es quizá otro factor, como reportan Smith et al.(89), ya que los comprimidos (Dilantin Infatabs) deben ser masticados previamente para que exista una mayor absorción; ése hecho puede explicar la variación en su biodisponibilidad, como reportaron Manson et al (54), al efectuar la comparación de la biodisponibilidad entre cápsulas y comprimidos elaborados por la misma compañía.

Lund(52) encontró una mayor absorción de la DFH en --

TABLA XI. Características biofarmacéuticas promedio de diferentes productos de la DFH (ref.65).

Producto	ABC (mg/hr/L)	Contenido de DFH (% declarado	Tiempo de desintegración (min)	Vel. de disolución (% disuelto)	Tamaño de partícula		Excipientes
					largo (μm)	Diam. de superficie (μm)	
A	327	105	1.46	55	70	25	Celulosa, calcio, fosfato, estearato de magnesio, ácido aegínico, monoestearato de glicerilo.
B	124	101	0.49	33	250	170	Almidón, gelatina ácido cítrico, estearato de magnesio, calcio.
C	429	100	0.64	83	85	20	Almidón, gelatina estearato de magnesio, talco.
D	283	93	3.09	58	75	20	Almidón, gelatina suerosa, lactosa, agar, estearato de magnesio, talco.
E	444	99	2.52	84	75	20	Almidón, gelatina lactosa, estearato de magnesio.
F	290	100	-	73	75	20	Tragacanto, glicerol, sucrosa, agua.
G	490	100	-	86	1-2	2	Tragacanto, glicerol, sucrosa, agua.

A= Enkefal comprimidos, B= Difhidan comprimidos, C= Dihidantoína comprimidos, D= Hidantin comprimidos (viejos), E= Hidantin comprimidos (nuevos), F= Suspensión de referencia, G= Suspensión de referencia micronizada.

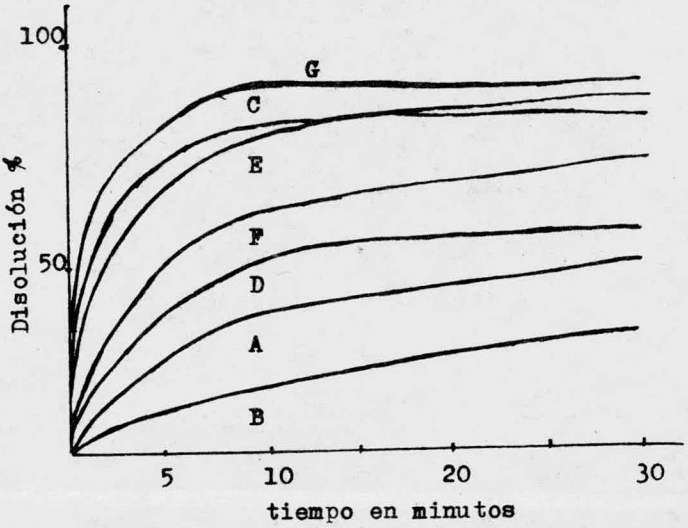


Figura 9. Velocidad de disolución <u>in vitro</u> de producto de DFH, usando el método de la canastilla de la USP, modificado con solución reguladora de boratos pH 9.2, 37°C. promedio ± DE de 4 a 6 determinaciones. (ref.65).

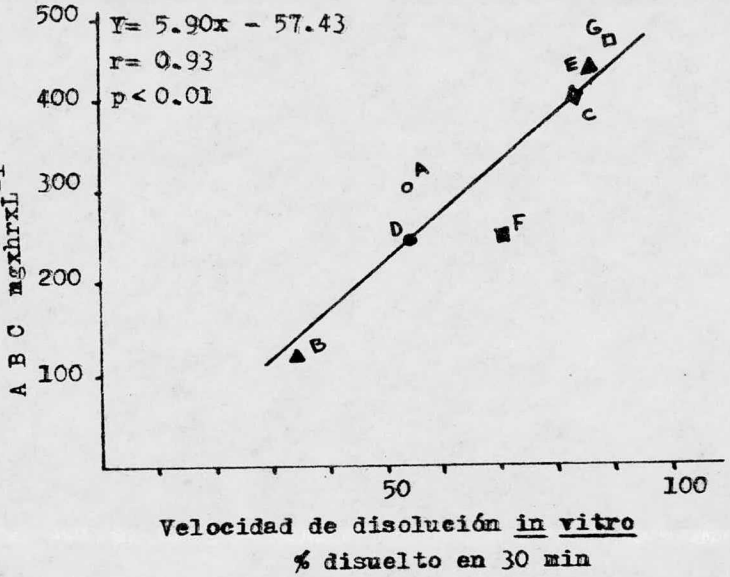


Figura 10. Relación entre la velocidad de disolución in vitro (% disuelto en 30 min), y el ABC de concentración en suero de DFH-tiempo en seis voluntarios, después de la administración de 600 mg de DFH, en siete preparaciones diferentes (ref.65)

forma de sal que en forma ácida; sin embargo, estudios realizados por otros investigadores (80,92) no confirman estas diferencias.

Yamamoto et al.(101) proponen un método para mejorar la biodisponibilidad de la DFH en forma de sal, mezclando ésta con celulosa microcristalina que permite obtener una completa absorción después de la administración oral; la Figura 11 muestra el nivel promedio en sangre y la velocidad de excreción urinaria del metabolito, después de la administración oral de la mezcla de la DFH con la celulosa microcristalina comparada con DFH sódica en polvo. Los resultados indican -- que el fármaco en la mezcla es mejor absorbido del tubo gastrointestinal, que la DFH sódica en polvo.

Como se puede observar, las diferencias en biodisponibilidad de un fármaco pueden deberse a muchos factores (43,-40,65,80); como efectos de la vía de administración, que es una función de las propiedades fisicoquímicas del fármaco; - la aplicación clínica apropiada empleando la forma farmacéutica con mejor biodisponibilidad para lograr un correcto uso terapéutico; factores tales como la formulación de la forma farmacéutica, la coadministración de otras sustancias; las - características de cada paciente pueden modificar grandemente la biodisponibilidad del fármaco. El cambio de una formulación a otra es muy importante (90), ya que puede dar lugar a una mayor concentración en sangre, pero también puede ocurrir una intoxicación. La concentración de DFH en plasma producida por la misma dosis, con la misma formulación, varía - entre los pacientes; de éste modo, un régimen de dosis fijo no es correcto para productos de DFH, ya que la dosis debe - estar basada en la respuesta clínica y en un control de la - concentración de niveles en sangre. Por consiguiente, el problema de la bioinequivalencia no es así crítico, si siempre se usa el mismo producto; pero el cambio a otro producto con diferente biodisponibilidad podría resultar en fallas tera--

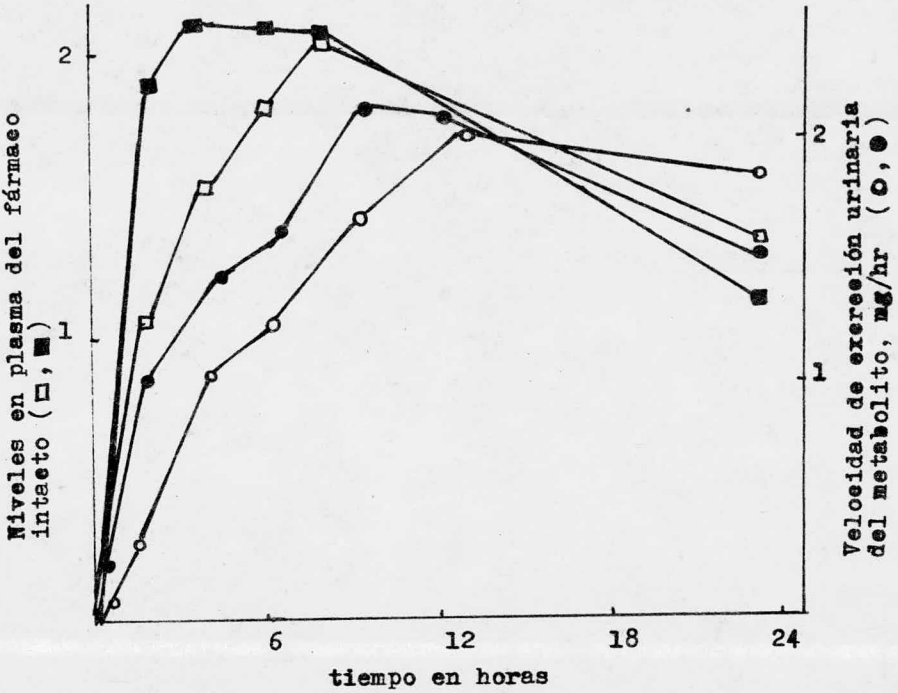


Figura 11. Comparación de niveles de plasma (□, ■) de DFH, con la velocidad de excreción urinaria (○, ●), del metabolito, después de una administración de 250 mg de polvo (○, □) y 250 mg de mezcla (●, ■) en dos voluntarios (ref.101).

péuticas o problemas de toxicidad. Además, los productos con buena biodisponibilidad son más absorbidos y con menos probabilidades de tener desventajas de interacción durante la fase de absorción. Además de éstos aspectos médicos, razones económicas favorecen el uso de productos con buena biodisponibilidad.

Se observa que existe un alto potencial de que los productos de la DFH en el comercio nacional presenten bioinequivalencia y por lo tanto se sugiere iniciar un proyecto de investigación encaminado al estudio de tan importante problema.

CAPITULO VI. ASPECTOS SOCIOECONOMICOS

6.1 Incidencia de la Epilepsia.

En una investigación efectuada con 6480 personas en el Hospital General, se ha encontrado que la frecuencia del padecimiento en México es relativamente elevado (relación de 12 por mil). Este porcentaje corresponde a más de 2.5 veces las cifras reportadas en otros países como EUA. e Inglaterra (que reportan de un 3 a 5% sobre la población total). En ésta investigación existen factores de error, debido al número reducido de personas investigadas y a la falta de cooperación de las mismas a la información requerida. Sin embargo, existen razones para creer que posible que el porcentaje de la Epilepsia en México sea más alto que en otros países; debido principalmente a que la frecuencia de la cisticercosis cerebral es de 3.4% de la población total y la tuberculomatosis cerebral está también muy extendida; ambas enfermedades pueden dar lugar a la Epilepsia.

6.2 Importación.

La DFH se importa de los siguientes países: República Federal de Alemania, Italia, E.U.A., Países Bajos, Francia y Suiza.

Los datos de importación presentados en ésta sección corresponden al período 1970-1976, TABLA XII,(6).

En 1970 se importó como defenilhidantoínato sódico; en 1971 como difenilhidantoína en forma ácida y como sal sódica; en 1972# la importación también fué de la sal sódica y de la forma ácida; en éste mismo año entra en vigor una nueva fracción arancelaria en la que se describe como hidantoína y sus derivados. En 1975 vuelve nuevamente a cambiar la fracción arancelaria y se describe como hidantoína y sus derivados de sustitución, permaneciendo así hasta la fecha(6).

TABLA XII. Datos de importación de la Difenilhidantoína, a partir del período correspondiente a 1970-1976 (ref.6).

	año	Unidad y cantidad en Kg. L	Valor en pesos.
DFH-Na	1970	5841	1 023 333
DFH	1971	980	121 588
DFH	1972	1256	569 125
DFH-Na		2386	87 715
	1972#	226	42 781
	1973	10992	1 067 548
	1974	11081	1 258 187
	1975	6425	1 097 954
	1976	13319	2 114 421

6.3 Fracción Arancelaria: 29.25.A.042

6.4 Precio en el Mercado Internacional como difenilhidantoína sódica, USP , mayo de 1979 (24).

Tambor en libras: de 5 a 5.60 dólares

6.5 Precio Oficial en México:

(17/76) Kg. L $191.00, más el impuesto al valorem de un 10%.

6.6 Consumo por el IMSS. El consumo fué en forma de - difenilhidantoinato sódico, con la clave 911 y en forma de - comprimidos de 100 mg (envase con 50 comprimidos)(127).

Número de Unidades	Consumo en Kg
185,529	927.64

6.7 Medicamentos que contienen DFH como único principio activo. En el mercado nacional se encuentran 5 productos diferentes, en diversas formas farmacéuticas que la contienen como único principio activo y son las siguientes (72) :

Nombre	Laboratorio que lo distribuye	Forma farmacéutica
Epamin	Parke Davis y Cía. de México.	Cápsulas, suspensión, inyectable
Hidantomin	Queralt-Mir	Comprimidos, y suspensión.
Fenidantoin-S	Kriya, S.A.	Cápsulas y comprimidos.
Hidantoína Rudefsa.	Rudefsa	Suspensión e inyectable.
OM-Hidantoína	"	Comprimidos.

CAPITULO VIII. CONCLUSIONES

Como resultado de ésta investigación bibliográfica ha sido posible obtener las siguientes conclusiones:

1. La frecuencia de la Epilepsia en México es elevada.

2. Es importante hacer notar el factor económico, ya que de los datos obtenidos acerca de su importancián, se observa un aumento tanto en cantidad como en costo. Esto hace resaltar la importancia de la Difenilhidantoína como fármaco anticonvulsivo, de elección en la epilepsia de gran mal. El hecho de encontrarse incluído en el cuadro básico del IMSS implica una distribución y consumo del fármaco, de relevancia a nivel nacional.

3. Existe gran variabilidad en los niveles plasmáticos de la DFH en los pacientes, después de la administración de la misma dosis. Por lo tanto los regímenes farmacoterapéuticos de dosificación óptimos son los individualizados.

4. Es necesario un control apropiado de la concentración sanguínea para poder obtener una buena respuesta terapéutica y no una respuesta tóxica, en beneficio del paciente. Por consecuencia, resulta importante el lograr determinaciones de la concentración de la DFH en los fluídos biológicos lo más exactas posibles, dependiendo ésto del método seleccionado para su cuantificación. Factores como el económico, la disponibilidad de técnicos expertos en el manejo del equipo, además de otros usos que pueda darse al instrumental dentro del laboratorio clínico, hace pensar en seleccionar a la Cromatografía de Gases como el método más apropiado. Otros métodos como el EMIT y el Radioinmunoensayo son de costo más elevado y existe una mayor dificultad en la obtención de tal equipo en el país.

5. Una gran proporción de la variabilidad en los niveles sanguíneos obtenidos después de la administración de la

DFH a humanos, podría explicarse en base a la eliminación de capacidad limitada a que dicho fármaco se encuentra sujeto. Tales procesos de capacidad limitada (cinética aparente de - Michaelis-Menten), se encuentran mediados por sistemas enzimáticos cuyas características pueden estar bajo control genético. Por ésto, es necesario realizar estudios de Farmacogenética (características farmacocinéticas de un principio activo, bajo control genético) de la DFH en la población mexicana, para entonces poder diseñar y evaluar correctamente la dosificación del fármaco en éste medio.

6. En base a los numerosos reportes encontrados referentes a la variación de la biodisponibilidad de la DFH tanto por diferentes vías de administración como por factores - relacionados al producto farmacéutico (tamaño de partícula, tiempo de desintegración, velocidad de disolución, naturaleza química del principio activo, coadministración de otras - sustancias, etc.), resulta necesario estudiar la biodisponibilidad de dicho fármaco a partir de productos en el comercio nacional.

7. En base al potencial tan elevado que tienen los -- productos de DFH para presentar bioinequivalencia, y su consecuente falta de eficacia terapéutica o potencial de toxicidad, se propone un estudio diagnóstico de la bioequivalencia de los productos de la DFH en el comercio nacional.

Tal estudio diagnóstico podría incluir estudios de la velocidad de disolución *in vitro* de la DFH a partir de dichos productos, así como el estudio de la correlación *in vitro* - *in vivo*.

8. En base los resultados de lo propuesto en (7), podría iniciarse otro proyecto abocado a la proposición de un anteproyecto de normas de bioequivalencia para dichos productos. El anteproyecto se presentaría a las autoridades sanitarias Nacionales correspondientes.

CAPITULO VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Aarli,JA.: Changes in serum immunoglobulin levels during Phenytoin treatment of epilepsy. Acta Neurol. Scand. -- 54:423-30, 1976.
2. Acosta,VM.,Pérez de Ayala,C., Mate,BI.:Difenilhidantoína: Su uso en Cardiología. Rev.Clin.Española 129:477-86,1973.
3. Ahmad,S.,Laidlaw,J.,Houghton,GW.:Involuntary movements -- caused by Phenytoin intoxication in epileptic patients. J. Neurol. Neurosurg.Psychiat. 38:225-31, 1975.
4. Albert,K.S.,Sakmar,E.,Hallmark,MR.:Bioavailability of Diphenylhydantoin. Clin.Pharmacol.Ther. 16:727-35,1974.
5. Andreasse,PB.,Froland,A.,Skovsted,L.:Diphenylhydantoin -- half-life in man and its inhibition by Phenylbutazone:The role of genetic factors. Acta Med.Scand.193:561-64,1973.
6. Anuario Estadístico de Comercio Exterior.IMCE,1970-1976.
7. Arnold,K.,and Gerber,N.:The rate of decline of Diphenylhydantoin in human plasma.Clin.Pharmacol.Ther.11:121-34,1970
8. Atkinson,A.J. and Shaw,J.M.:Pharmacokinetic study of a patient with Diphenylhydantoin toxicity. Clin. Pharmacol. Ther. 14:521-27, 1973.
9. Bivins,BA.,Rapp,RP.,Griffen,WD.:Dopamine-Phenytoin Interaction. Arch.Surg. 113:245-49, 1978.
10. Boehner,F.,Hopper,WD.,Tyrer,JH.:The renal handling of Diphenylhydantoin and 5-(p-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin. Clin.Pharmacol.Ther. 14:791-96, 1973.
11. Buchanan,RA.,Kinkel,AW.,Goulet,RJ.,and Smith,TC.:Metabolism of Diphenylhydantoin following once-daily administration. Neurology (Minneap). 22:126-30, 1972.
12. Buchanan,N.,Rosen,E.,Rabinowitz,L.:Athetosis and Phenytoin toxicity. Am.J.Dis.Child. 131:105, 1977.
13. Buchthal,F.,and Svensmark,O.:Aspects of the pharmacology of Phenytoin(Dilantin)and Phenobarbital relevant to their dosage in the treatment of epilepsy. Epilepsia. 1:373-84, 1959/60.
14. Burckart,B.,Chien,L.,Evans,W.,Katarski,M.:Phenytoin dosage

15. Blaschke,TF.,Meffin,PJ.,Melmon,KL.:Influence of antivi-- ral hepatitis on Phenytoin Kinetics and protein binding. Clin. Pharmacol.Ther. 17:685-91, 1976.
16. Camerón,JD.,and Hedley,DW.:Bioavailability of drugs af-- ter intramuscular injection.Lancet 1(7908):700, 1975.
17. Castro,A.,Ibañez,J.,Di Cesare,J.,Adams,RF.:Comparative - determination of Phenytoin by Spectrophotometry,Gas chro matography, Liquid chromatography,Enzyme Immunoassay and Radioimmunoassay. Clin.Chem. 24:710-13,1978.
18. Cook,CE.,Amerson,E.,Poole,WK.,Lesser,P.:Phenytoin and -- Phenobarbital concentrations in saliva and plasma measu- red by RIA. Clin.Pharmacol.Ther. 18:742-47,1975.
19. Cady,WJ.,Rapp,RP.,and Young,B.:Increased doses of Pheny- toin for Infants. Am.J.Hosp.Pharm. 35:961-63, 1978.
20. Curless,RG.,Walson,PD.,and Carter,DE.:Phenytoin kinetics in children, Neurology(Minneap).26:715-20,1976.
21. Chamberlain,RT.,Stafford,DT.:High-pressure liquid chroma tography and Enzime Immunoassay compared with Gas chroma tography for determining Phenytoin. Clin.Chem. 23(9): - 1764-66, 1977.
22. Chang,T.,Young,R.,Masehewske,E.,et al.:Metabolic studies with C^{13} - C^{14} doubly labeled Phenytoin in human subjects Epilepsia. 18:291, 1977.
23. Charlesworth,ME.:Phenytoin-Induced pseudolymphoma syndro me. Arch.Dermatol. 113:477-80, 1977.
24. Chemical Marketing Reporter. Mayo 14, 1979.
25. Evans,JE.:Simultaneous measurement of Diphenylhydantoin an Phenobarbital in serum by high performance liquid chro matography. Anal.Chem. 45:2428-2429, 1973.
26. Friis,B.,and Sardeman,H.:Neonatal hypocalcaemia after in trauterine exposure to anticonvulsant drugs. Arch. Dis. Child. 52:239-47, 1977
27. Garrettson,LK.,and Jusko,WJ.:Diphenylhydantoin elimina-- tion kineties in overdosed childre. Clin. Pharmacol. - Ther. 17:481-91, 1975.
28. Gill,MA.,Kern,JW.,Kuneko,J.:Phenytoin overdosed kineties.

West.J.Med. 128:246-248, 1978.

29. Glazko,A.,Chang,T.,Baukema,J.,Dill,WA.:Metabolic disposition of diphenylhydantoin in normal subjects following intravenous administration.Clin.Pharmacol.Ther. 10:498-504, 1969.
30. Gugler,R.,Manion,CV.,and Azarnoff,DL.:Diphenylhydantoin: Pharmacokinetics and bioavailability. Clin.Pharmacol. Ther. 19:135-42,1976.
31. Gibberd,FB.,and Webley,M.:Studies in man of Phenytoin absorption and its implications. J. Neurol.Neurosurg. Psychiat. 38:219-224, 1975.
32. Hawkins,C.:Haematological effects of anticonvulsant treatment. Lancet 2(8084):317, 1978.
33. Huijgens,PC.,Thijs,LG.,and Den Ottolander,G.J.:Pure red cell aplasia,toxic dermatitis and lymphadenopathy in a patient taking diphenylhydantoin.Acta Haemat. 59:31-36, 1978.
34. Herberg,KP.:Effects of diphenylhydantoin in 41 epilepties institutionalized since childhood.South.Med.J. 70:19-24, 1977.
35. Hyman,LR.,Ballow,M.,and Knieser,MR.:Diphenylhydantoin - interstitial nephritis.Roles of cellular and humoral immunologic injury. J.Pediat. 92:915-20, 1978.
36. Hernández Peniche Julio. Epilepsia:Diagnóstico y tratamiento. 2a. ed. La Prensa Médica Mexicana,1977 pags.101-6.
37. Hooper,WD.,Bochner,F.,Eadie,MJ.:Plasma protein binding - of Diphenylhydantoin effects of sex hormones, renal and hepatic desease. Clin.Pharmacol.Ther. 15:171-77, 1974.
38. Index Merck. Merck, Co. Inc.9a. ed. 1976.
39. Jusko,WJ.,Koup,JR.,and Alván,G.:Nonlinear asessment of - Phenytoin bioavailability. J.Pharmacokin.Biopharm. 4:327-36, 1976.
40. Koch-Weser,J.:Bioavailability of drugs.The New England - Journal of medicine. 295(5):233-237, 1974
41. Karlen,B.,Garle,M.,Rane,A.,Gutova,M.:Assay of the major (4-hydroxylate) metabolites of Diphenylhydantoin in human

42. Kostenbauder,H.B.,Rapp,RP.,Mc Govren,JP.,Foster,TS.:Bioavailability and single-dose pharmacokinetics of intramuscular Phenytoin. Clin.Pharmacol.Ther.18:449-56, 1975.
43. Katz,EZ.,Granit,L.,and Levy,M.:Bioavailability of Phenytoin.A comparison between two preparations. Israel.J.Med. Sci. 14:489-91, 1978.
44. Kutt,H.:Pharmacodynamic and pharmacokinetic measurements of antiepileptic drugs.Clin.Pharmacol.Ther.16:243-50,1974
45. Keith,DA.:Side effects of Diphenylhydantoin: a review. J.Oral Surgery. 36:206-208, 1978.
46. Livingston,S.,Pauli,LL.,Pruce,I.:Single or multiple daily doses of anticonvulsant drugs.J.Pediat.90:853-54,1977.
47. Lund,L:Anticonvulsant effects of Diphenylhydantoin relative to plasma level. Arch.Neurol. 31:289-294, 1974.
48. Loughnan,PM.,Greenwald,A.,Purton,WW.,et al.:Pharmacokinetic observations of Phenytoin disposition in the newborn and young infant. Arch.Dis.Child. 52:302-309, 1977.
49. Litter,M.: Manual de Farmacología Experimental y Clínica 5a. ed. Edit. El Ateneo. 1975.
50. London,M.,Sanabria,D.,and Yan,D.:Enzyme immunoassa of -- Phenytoin and Phenobarbital with the centrifugal analyzer. Clin.Chem. 23:1362, 1977.
51. Long,JP.:Enzyme immunoassay with use of a centrifugal -- analyzer of Phenytoin, Phenobarbital and Theophylline. Clin. Chem. 24:391, 1978.
52. Lund,L.:Clinical significance of generic inequivalence - of the three different pharmaceutical preparations of -- Phenytoin. Europ.J.Clin.Pharmacol. 7:119, 1974.
53. Ludden,TM.,Hawkins,DW.,Allen,JP.,and Hoffman,SF.:Optimum Phenytoin-dosage regimen.Lancet 1(7961):307-8, 1976.
54. Manson,JI.,Beal,SM.,Magarey,A.,Pollard,AC.:Bioavailability of Phenytoin from various pharmaceutical preparations in children. Med.J.Aust. 2:590-92, 1975.
55. Melikian,AP.,Straugh,AB.,Slywka,GWA.,Whyatt,PL.:Bioavailability of 11 Phenytoin products. J.Pharmacok. Biopharm. 5:133-46, 1977.

56. Mc Gregor,AR.,Crogkall-Creening,JD.,London,J.:Polarisation fluoroimmunoassay of Phenytoin. Clin.Chim.Acta. 83:161-66, 1978.
57. Mac Gee,J.:Rapid determination of Diphenylhydantoin in blood plasma, by gas-liquid chromatography. Anal.Chem. 42(3):421-422, 1970.
58. Martin,E.,Tozer,TN.,Sheiner,LB.:The clinical pharmacokinetics of Phenytoin. J.Pharmacokin.Biopharm.5:579-95,1977
59. Montgomery,MR.,Holtzman,JL.,Leute,RK.,Dewees,JS.:Determination of Diphenylhydantoin in human serum by Spin immunoassay. Clin.Chem. 21:221-26, 1975.
60. Midha,KK.,McGilveray,IJ.,and Eilson,DL.:Sensitive GLC -- procedure for simultaneous determination of Phenytoin -- and its major metabolite from plasma. J.Pharm.Sci. 65:1240-43, 1976.
61. Midha,KK.,Hindmarsh,KW.,Mc Gilveray,IJ.:Identification of urinary catecol and methylated catecol metabolites of Phenytoin in humans, monkeys, and dogs by GLC and GLC-Mass Spectrometry. J.Pharm.Sci. 66:1596-1602, 1977.
62. Mirkin,BL.,and Wright,F.:Drug interactions:effect of methylphenidate on the disposition of Diphenylhydantoin in man. Neurology (Minneap). 21:1123-28, 1971.
63. Mc Lelland,J., and Jack,W.:Phenytoin, Dexamethasone interaction; A clinical problem.Lancet 1(8073):1096-97,1978.
64. Meyers,FH.,Jawetz,E., y Golfien,A.: Manual de Farmacología Clínica. 2a. ed., Edit. El Manual Moderno,S.A.,1975.
65. Neuvonen,PJ.,Pentikäinen,PJ.,and Elfvings,SM.:Factors affecting the bioavailability of Phenytoin. Int. J. Clin. Pharmacol. 15(2):84-89, 1977.
66. Orme,ML.,Borga,O.,Cook,CE.:Measurement of Diphenylhydantoin in 0.1 ml plasma samples gas chromatography and radioimmunoassay compared. Clin.Chem. 22:246-49, 1976.
67. Oliveri,R., y Balestrini,AE.:Valoración de la Difenilhidantoína sódica en arritmias asociadas a la intoxicación digitálica. Pren.Med.Argent. 58:1613-17, 1971.
68. Pincus,JH.,Grove,I.,Marino,BB.:Studies on the mechanism

of action of Diphenylhydantoin. Arch.Neurol. 22:566-571, 1970.

69. Perry,JG.,Mc Kinney,L.,De Weer,P.:The cellular mode of action of the antiepileptic drug: 5,5-diphenylhydantoin Nature. 272:271-273, 1978.
70. Perrier,D.,Rapp.R.,Young,B., et al.:Maintenance of therapeutic Phenytoin plasma levels vía intramuscular administration. Annal.Int.Med. 85:318-321, 1976.
71. Painter,MJ.,Pippenger,Ch.,Mac Donald,H.:Phenobarbital -- and Diphenylhydantoin levels in neonates with seizures. J.Pediat. 92:315-19, 1978.
72. PLM. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 25a.ed mexicana, Ediciones PLM,S.A.,San Bernandino México,1978.
73. Pentikäinen,PJ.,Neuvonen,PJ.,and Elfvings,SM.:Bioavailability of four brands of Phenytoin in tablets. Europ.J. Pharmacol. 9:213-218, 1975.
74. Richens,A.,Dunlop,A.,Ahmad,S.,Laidlaw,J.:Monitoring serum Phenytoin. Lancet 1(7961):699-700, 1976.
75. Rogers,HJ.,Haslam,RA.,Longstreth,J.,and Lietman,PS:Phenytoin intoxication during concurrent diazepam theraphy. J.Neurol.Neurosurg.Psychiat. 40:890-895, 1977.
76. Reynolds,EH.,Chadwick,D.,Galbraith,AW.:One drug (Phenyto in) in the treatment of epilepsy. Lancet 1(7966):923-26 1976.
77. Strauss,RG.,Ramsay,ER.,Willmore,LJ.,and Wilder,BJ.:Haematologic effects of Phenytoin theraphy during pregnancy. Obstretrics and Gynecology. 51:682-85, 1978.
78. Sherman,S.,Roizen,N.:Fetal hydantoin syndrome and neuroblastoma. Lancet 2(7982):517, 1976.
79. Swarbrick,J:Dosage form Design and Bioavailability. Edit. Lea & Febiger,Philadelphia, EUA.,1973.
80. Sansom,LL.N.,O'Reilly,WJ.,Wiseman,CW.,Stern,LM.;Plasma - Phenytoin levels produced by various Phenytoin preparations. Med.J.Aust. 2:593-595, 1975.
81. Swarbrick,J.:Biopharmaceutics:Current concepts in the --

Pharmaceutical Sciences. Edit. Lea & Febiger, Philadelphia USA., 1970.

82. Spiehler, V., Miyada, D., and Jessen, B.: Evaluation of RIA, - EMIT and spectrophotometry for clinical determination of the anticonvulsant drugs: Phenobarbital and Diphenylhydantoin. Clin. Chem. 21:946, 1975.
83. Stella, V.J.: Use of trimethylanilinium hydroxide tetramethylamnonium hydroxide as on-column methylating agent -- for GLC analysis of Phenytoin. J. Pharm. Sci. 66:1510-11, - 1977.
84. Sabih, K., and Sabih, K.: Combined GLC and high resolution Mass spectroscopic analysis of Diphenylhydantoin. J. Pharm. Sci. 60:1216-1220, 1971.
85. Stauchansky, S., Ludden, T., Allen, JP., and Wu, P.: Correlation of the EMIT Diphenylhydantoin assay in blood plasma with a GLC and Spectrophotometry method. Anal. Chim. Acta. 92:213-16, 1977.
86. Schmidt, D., Goldberg, V., Guelen, PJ., et al: Evaluation of a New immunoassay for determination of Phenytoin and Phenobarbital: Results of a European Collaborative control study. Epilepsia 18:367-73, 1977.
87. Saitoh, Y., Nishihara, K., Nakagwa, F., and Suzuki, T.: Improved microdetermination for Diphenylhydantoin in blood by UV spectrophotometry. J. Pharm. Sci. 62:206-210, 1973.
88. Schwartz, PA., Thodes, CT., and Cooper, JW.: Solubility and Ionization characteristics of Phenytoin. J. Pharm. Sci. 66:994-97, 1977.
89. Smith, TC., and Kinkel, D.,: Absorption and metabolism of -- Phenytoin from tablets and capsules. Clin. Pharmacol. Ther. 20:738-42, 1977.
90. Stewart, MJ., Ballinger, BR., Devlin, EJ.; Bioavailability of Phenytoin. A comparison of two preparations. Europ. J. Clin. Pharmacol. 9:209,212, 1975.
91. Tigelaar, ER., Rapport, RL., Inman, JM.; A radioimmunoassay for Diphenylhydantoin. Clin. Chim. Acta. 43:231-241, 1973.

92. Tammisto,P.,Kanko,K.,and Vinkari,M.:Bioavailability of - Phenytoin. Lancet 1(7953):254-5, 1976.
93. Sheth,KJ.,Casper,JT.,and Good,TA.:Interstitial nephritis due to Phenytoin hypersensitivity.J.Pediat.91:438-441, 1978.
94. Shorvon,SO.,Chadwick,D.,Galbraith,AW.:One drug for epilepsy. British Medical Journal. 1:474-76, 1978.
95. USP XIX. United States Pharmacopeia. Mack Printing. Co. Easton, 1975.
96. Wallace,JE.:Determination of Diphenylhydantoin in biological specimens by ultraviolet spectrophotometry. Anal. Chem. 40(6):978-980, 1968.
97. Wallace,JE.,and Hamilton,HE.:Diphenylhydantoin microdetermination in serum and plasma by UV spectrophotometry. J.Pharm.Sci. 63(11):1795-1798, 1974.
98. Wilson,JT.,Höjer,B.,Tomson,G.,Rane,A.:High incidence of a concentration dependent skin reaction in children treated with Phenytoin. British Medical Journal 1:1583-1586, 1978.
99. Wilson,JT.,Höjer,B.,and Rane,A.:Loading and conventional dose therapy with Phenytoin in children:Kinetic profile of parent drug and main metabolite in plasma. Clin. Pharmacol.Ther. 20:48-58, 1976.
100. Woodbury,D.M.,and Kemp,JW.:Pharmacology and Mechanisms - of action of Diphenylhydantoin. Psychiat. Neuro.Neurochir, 74:91-115, 1971.
101. Yamamoto,K.,Nakano,M.,Arita,T.:Dissolution behavior and bioavailability of Phenytoin from a ground mixture with microcrystalline cellulose. J.Pharm.Sci.65:1484-88,1976.
102. Fossan,GO.:Reduced CSF,IgG in patient treated with Phenytoin(Diphenylhydantoin).Eur.Neurol. 14:426-32, 1976.
103. Di Palma: Drill's Pharmacology in medicine. 4a. ed. Mc - Graw Hill book Company, 1971.
104. Clarke,EG.:Isolation and identification of drugs. Vol I The Pharmaceutical Press, 1974, pag. 496.

105. Olesen,OV. (1967). Acta Pharmac. Tox. 25:123.
106. Wallace,JE. (1966), J.Forens. Sci. 11:552
107. Goodman and Gilman. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 5a.ed. Mac Millan Publishing,Co.INc. 1975.
108. Agarwald,SP.,and Blake,MI.:Determination of the pka value for 5,5-diphenylhydantoin. J.Pharm.Sci.57:434-435, 1968.
109. Wallis,W.,Kutt,H.,and Mc Dowell,P.:Intravenous Diphenylhydantoin in treatment of acute repetitive seizures. Neurology (Minneap) 18:513-525, 1968.
110. Riehl,JL.,and Mc Intyre,HB.: A quantitative study of -- the acute effects of Diphenylhydantoin on the electroencephalogram of epilptic patients. Neurology (Minneap). 18:1107-12, 1968.
111. Patel,H., and Chichton,JV.: The neurological hazards of Diphenylhydantoin in childhood.J.Pediat.73:676-84,1968.
112. Fertzinger,AP. et al.:Diphenylhydantoin (Dilantin) stimulation of potassium influx in lobster axon. Brain Res. 33:592-96, 1971.
113. Siegel,GJ.,and Goodwin,BB.: Effects of 5,5-diphenylhy-- dantoin(DPH) and 5-p-hydroxyphenyl-5-phenylhydantoin (HPPH) on brain Na^+-K^+-ATPase.Neurology. 21:417. 1971.
114. Lewin,E.,and Bleck,V.:The effect of Diphenylhydantoin - administration on cortex potassium-activated phosphatase. Neurology(Minneap). 21:417-418, 1971 a.
- idem. The effect of DPH administration on sodium potassium activated APTase in cortex. 21:647-651, 1971 b.
115. Crane,P.,and Swanson,PD.:Diphenylhydantoin and the ca-- tions and phosphates of electrically stimulated brain slices. Neurology(Minneap) 20:1119-1123, 1970.
116. Pincus,JH.,and Swanson,MD.:Diphenylhydantoin and intracellular sodium concentration. Neurology.19:419-22,1969.
117. Lewin,E.,Charles,G.,and Mc Crimmon,A.: Discharging cortical lesions produced by frezing. Neurology.19:656-659, 1969.

118. Toman,JE.,and Sabelli,HC.:Comparative Neuronal Mechanisms. Epilepsia 10:179-192, 169.
119. Watson,E.,and Woodbury,DM.:Effects of Diphenylhydantoin on active sodium transport in frog skin. J. Pharmacol. Exp.Ther. 180:767-776, 1972.
120. Sohn,R.,and Ferrendelli,JA.:Inhibition of Ca^{++} transport into rat brain synaptosomes by Diphenylhydantoin (DPH). J.Pharmacol.Exp.Ther. 185:272-275, 1973.
121. Porter,RJ.,and Layzer,RB.:Plasma albumin concentration and Diphenylhydantoin binding in man. Arch. Neurol. 32:298-303, 1975.
122. Ayala,GF.,Johnston,D.:The mechanism of action of Diphenylhydantoin or invertebrate neurona.I. Brain.Res. 121:245-258, 1977.
123. Sohn,R., and Ferrendelli,JA.:Anticonvulsant drug mechanisms. Arch. Neurol. 33:626-629, 1976.
124. Pincus,JH.:Diphenylhydantoin and ion flux in lobster -- nerve. Arch. Neurol. 26:4-10, 1972.
125. Hasbani,N.,Pincus,JH.,Lees,H.:Diphenylhydantoin and calcium movement in lobster nerves. Arch.Neurol.31:250-54, 1974.
126. Festtoff,BW.,and Appel,SH.:Effect of Diphenylhydantoin on synaptosome sodium-potassium-ATPase. J. Clin. Invest. 47:2752, 1968.
127. Sánchez,Castillo,Ma.Luisa. Trabajo presentado en la reunión Internacional de la División para el Industrial de las Naciones Unidas. 1975.
128. Booker,HE.,and Darcey,BA.:Enzymatic Immunoassay vs. Gas Liquid Chromatography for determination of Phenobarbital and Diphenylhydantoih in serum. Clin. Chem. 21(12): 1766-1768, 1975.
129. Hernández,Peniche,J., y Astegui,RB.:Cuantificación de - niveles séricos de anticonvulsivos. Prensa Med.Mex. 39(11-12):478-480, 1974.