

Revista Cubana de Farmacia, Vol. 51, No. 3  
(2017)

ARTÍCULO ORIGINAL

## Dimensión fractal reactiva y proceso de disolución de la warfarina sódica

### Reactive fractal dimension and dissolution process for warfarin sodium

Gloria Elena Tobón Zapata

Raúl Castrillón-López

Carlos Hernández Escudero

Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** La warfarina pertenece a la clase II del sistema de clasificación biofarmacéutica, con una limitada solubilidad.

**Objetivo:** Evaluar el proceso de disolución de la warfarina sódica mediante el análisis fractal, para la descripción de la forma y superficie de las partículas de warfarina con diferentes tamaños.

**Métodos:** El proceso de disolución se realizó mediante el empleo del análisis fractal para la descripción de la forma y superficie de las partículas de warfarina con diferentes tamaños. La eficiencia de disolución se calculó en medios de disolución con diferentes pH, además del método recomendado por la farmacopea, transcurridos 9 y 20 minutos desde inicio de la disolución y al tiempo final, para cada tamaño y medio de disolución, posteriormente se calculó la dimensión fractal reactiva.

**Resultados:** La dimensión geométrica de las partículas no coincide con la superficie reactiva disponible para la disolución; la dimensión fractal reactiva a pH 1,2 está entre 1,82 y 1,87, mientras que en los demás medios estudiados aumenta por encima

del valor de la dimensión fractal superficial (entre 2,81 y 2,98). Los resultados obtenidos evidencian la importancia del tamaño de partícula a valores de pH relativamente bajos, en los que la molécula de warfarina no está ionizada, siendo necesaria una mayor área superficial expuesta debido a que las partículas se comportan como lisas, pese a su grado de irregularidad; mientras que a valores de pH más altos el tamaño de partícula no influye notablemente en la eficiencia de disolución, dado que las partículas se comportan como rugosas probablemente debido a la generación de poros en su superficie por acción del medio, que aumentan la cantidad de sitios activos en la superficie.

**Conclusiones:** El comportamiento de la warfarina sugiere que es deseable disminuir el tamaño de las partículas en formas de dosificación sólidas.

**Palabras clave:** warfarina; disolución; dimensión fractal reactiva; tamaño de partícula; eficiencia de disolución.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Warfarin belongs to class II of the Biopharmaceutical Classification System, with limited solubility.

**Objective:** To assess the dissolution process of warfarin sodium by fractal analysis, for the description of the shape and surface of warfarin particles with different sizes.

**Methods:** The dissolution process was carried out using fractal analysis to describe the shape and surface of the warfarin particles with different sizes. The dissolution efficiency was calculated in dissolution media with different pH values, in addition to the method recommended by the pharmacopoeia, after 9 and 20 minutes from the beginning of the dissolution and at the final time, for each size and dissolution medium, the reactive fractal dimension was afterwards calculated.

**Results:** The geometric dimension of the particles does not coincide with the reactive surface available for dissolution; the reactive fractal dimension at pH value of 1.2 is between 1.82 and 1.87, while in the other media studied it increases above the value of the surface fractal dimension (between 2.81 and 2.98). The results obtained show the importance of particle size at relatively low pH values, in which the warfarin molecule is not ionized, a greater exposed surface area being necessary because the particles behave as smooth, despite their degree of irregularity; while at higher pH values, particle size does not noticeably influence the efficiency of dissolution, since the particles behave as rough, probably due to the generation of pores on their surface by the action of the medium, which increases the number of active sites on the surface.

**Conclusions:** The behavior of warfarin suggests that it is desirable to decrease particle size in solid dosage forms.

**Keywords:** warfarin; dissolution; reactive fractal dimension; particle size; dissolution efficiency.

---

## INTRODUCCIÓN

La warfarina 3-( $\alpha$ - acetonylbenzyl)-4-hydroxycoumarin es de amplio uso en terapia anticoagulante. Presenta un pKa de 5,0 y se comercializa como warfarina sódica;<sup>1</sup> y un clatrato que contiene alcohol isopropílico (IPA) en su celda cristalina, con en una relación 2:1 (warfarina sódica-IPA).<sup>2</sup> A pH bajo predomina la forma ácida de la warfarina, lo que la hace muy poco soluble y favorece su precipitación en el tracto gastrointestinal.

La warfarina con alta permeabilidad y baja solubilidad, pertenece a la clase II del sistema de clasificación biofarmacéutica (*Biopharmaceutics Classification System, BCS*); ello implica que la disolución es el paso limitante en la absorción, a menos que se emplee una dosis alta. Los medicamentos que pertenecen a esta clase, suelen exhibir una absorción variable y errática relacionada con una velocidad de disolución o solubilidad insuficiente, lo cual limita su disponibilidad en el tracto gastrointestinal; para esta clase de activos es deseable un aumento en la velocidad de disolución, con el fin de incrementar su biodisponibilidad.<sup>3,4</sup>

Entre los factores que influyen en el comportamiento de una partícula durante el proceso de disolución, se consideran la forma, el tamaño y las características superficiales. La descripción de las partículas regulares se enmarca dentro de la geometría euclidiana; sin embargo, la mayoría las partículas de uso farmacéutico no presentan formas regulares, por lo que tradicionalmente se ha recurrido a descriptores con capacidad de reflejar más su grado de irregularidad que su forma. Respecto a las características superficiales de las partículas, la farmacopea hace referencia a la presencia de poros, variedad de ejes, defectos y rugosidad.<sup>5</sup>

Entre las técnicas tradicionales de caracterización de las superficies, están la microscopía de barrido electrónico (SEM) y la medición de área superficial a través del modelo Brunauer-Emmett-Teller (análisis BET). El análisis fractal se considera, por tanto, una aproximación novedosa aplicada al estudio de las formas y superficies; basado en la autosimilitud de una forma a diferentes niveles de resolución, puede aplicarse a partículas irregulares. La dimensión fractal (D) permite asignar un valor numérico no entero (entre 1 y 2), útil para describir la forma de una partícula.<sup>6,7</sup>

La geometría fractal también ofrece una alternativa para relacionar la D con la superficie de la partícula, mediante la dimensión fractal superficial ( $D_s$ ); esta representa la dimensión de toda la superficie y toma valores entre 2 y 3, cuyo valor depende de los parámetros geométricos de la partícula y es mayor cuanto más irregular o rugosa sea la partícula.<sup>8,9</sup> Este parámetro puede relacionarse con los sitios de la partícula efectivamente disponibles para algún proceso, que ocurra en su superficie mediante la dimensión fractal reactiva ( $D_R$ ); en este caso, representa los sitios activos durante el proceso de disolución (también denominados efectivos),<sup>8,10</sup> y es la velocidad de disolución proporcional a  $R^{D_R-3}$ ,<sup>11</sup> donde R representa el tamaño de la partícula.

La relación entre R y la superficie total de la partícula está fuertemente influenciada por la superficie expuesta, con una gran dependencia de R; una menor R supone menor tamaño de partícula y, por ende, mayor área superficial expuesta y disponible para el proceso de disolución. La superficie reactiva (o superficie efectiva) disponible para un proceso que se realice en la superficie de la partícula, puede describirse con  $D_R$ ; puesto que  $D_R$  incluye todos los sitios activos presentes en la superficie efectivamente disponibles para el proceso de disolución, abarca las grietas, poros o defectos superficiales, que poseen un área interna menos dependiente de R y que pueden estar en contacto con el solvente.

Se ha demostrado que esas superficies son fractales y tienen un exponente empírico m (ecuación 1). Un valor de m menor que 1 implica una pobre correspondencia entre el tamaño de la partícula y la superficie efectiva que participa activamente en el proceso de disolución, lo cual indica que la disolución se realiza preferentemente en partes internas de la partícula (como grietas o poros); mientras que un valor de m mayor de 1, indica una mayor dependencia entre el tamaño de la partícula y la superficie de esta (partículas lisas).<sup>8</sup>

$$U \sim A^{(D_R-3) / (D_S-3)}$$

Este trabajo se diseñó con el objetivo de evaluar el proceso de disolución de la warfarina sódica mediante el análisis fractal, para la descripción de la forma y superficie de las partículas de warfarina con diferentes tamaños.

## MÉTODOS

La warfarina fue suministrada por un laboratorio farmacéutico local e identificada por espectroscopía infrarroja en un

espectrofotómetro FT-IR *Spectrum BX* por transformada de Fourier, marca *Perkin Elmer*, en pastillas de KBr entre 4 000 y 400  $\text{cm}^{-1}$ .

## CARACTERIZACIÓN DE LAS PARTÍCULAS

Tamaño de partícula: la warfarina se fraccionó en tres tamaños de partícula diferentes en un tamizador vibratorio modelo *WS Tyler Ro-Tap*<sup>®</sup> *RX-29*, con tamices de acero inoxidable No. 60 para obtener fracciones con tamaño de partícula de 250  $\mu\text{m}$ , No. 80 para tamaño de 177  $\mu\text{m}$  y No. 120 para tamaño de 125  $\mu\text{m}$ .

Morfología: se empleó un tamaño muestral de 20 microfotografías por fracción, tomadas con un microscopio de luz óptica marca *Boeco*. Se utilizó el software *Image J* para hallar el perímetro (definido como el contorno de la partícula); la redondez y la circularidad, relacionadas con el grado de esfericidad; la relación de aspecto y el diámetro de Feret, que dan una idea aproximada del grado de elongación; y la dimensión fractal, que hace referencia a la forma y rugosidad.

## ANÁLISIS FRACTAL

La dimensión fractal se determinó experimentalmente con el método de conteo de cajas y se empleó el software ya mencionado. Una vez comprobada la autosimilitud entre las fracciones, se calculó el parámetro derivado  $D_s$ , mediante la utilización de la [ecuación 2](#).

$$D_s = D + 1$$

$D_R$  se calculó a través de la [ecuación 3](#):

$$D_R = 3 - m$$

Donde:

$m$ : pendiente del gráfico con efecto Richardson.<sup>11</sup>

Con el fin de relacionar la superficie de las partículas con la presencia de grietas, poros o defectos superficiales, se calculó  $m$ , de acuerdo con la [ecuación 4](#):

$$m = (D_R - 3) / (D_s - 3)$$

Los valores porcentuales de RSD (desviación estándar relativa o coeficiente de varianza), se calcularon de acuerdo con la [ecuación 5](#).

$RSD = \text{desviación estándar} / \text{promedio} \times 100$

Donde:

$RSD = \text{desviación estándar} / \text{promedio} \times 100$

## ENSAYOS DE DISOLUCIÓN

Las disoluciones se llevaron a cabo en un equipo marca *Erweka* (tipo II, paletas), a 50 rpm, a una temperatura de  $37 \pm 0,5$  °C, en un volumen del medio de 900 mL, y con una carga aproximada de 10 mg de warfarina sódica; las lecturas se realizaron a 305 nm en celdas de cuarzo de 1 cm. El tiempo máximo establecido para el análisis fue de 30 minutos.

De acuerdo a los requerimientos de la *US Food and Drug Administration* (FDA), se emplearon medios acuosos con una fuerza iónica similar a los descritos en la *United States Pharmacopeia* (USP).<sup>3</sup> El pH de los medios empleados (tamponados) fue de 1,2; 4,5 y 6,8. La influencia del pH y el tamaño de partícula en el proceso de disolución se determinó mediante un diseño experimental factorial. También se realizó el ensayo de disolución en agua desionizada, por ser el medio establecido por la farmacopea<sup>5</sup> para la warfarina.

## EFICIENCIA DE LA DISOLUCIÓN

La eficiencia de la disolución ( $E_d$ ) se obtuvo a partir de la relación, en términos porcentuales, entre el área bajo la curva, calculada a partir del proceso de disolución experimental y la de un proceso teórico, en el que se asume un porcentaje de disolución igual al 100 % en el mismo tiempo final. Se calculó la  $E_d$  correspondiente, en la terminación de la etapa ascendente (poco más o menos) de la curva del perfil de disolución, en la etapa de estabilización de esta y en el tiempo final.

$T_{50}$  corresponde al tiempo en minutos necesario para la disolución del 50 % de la warfarina.

## RESULTADOS

En la [tabla 1](#) se muestran los resultados de los descriptores morfológicos para las fracciones de los tres diferentes tamaños de partícula. La medición de estos descriptores arroja un valor numérico que refleja la magnitud del grado de irregularidad de la forma de una partícula o su alejamiento de un círculo perfecto.

También se calculó  $D$  para cada fracción de tamaño de partícula, lo cual arrojó como resultado un valor de 1,5 para cada una de ellas,

lo que permite calcular un valor de  $D_s$  de 2,5, de acuerdo con la [ecuación 2](#).

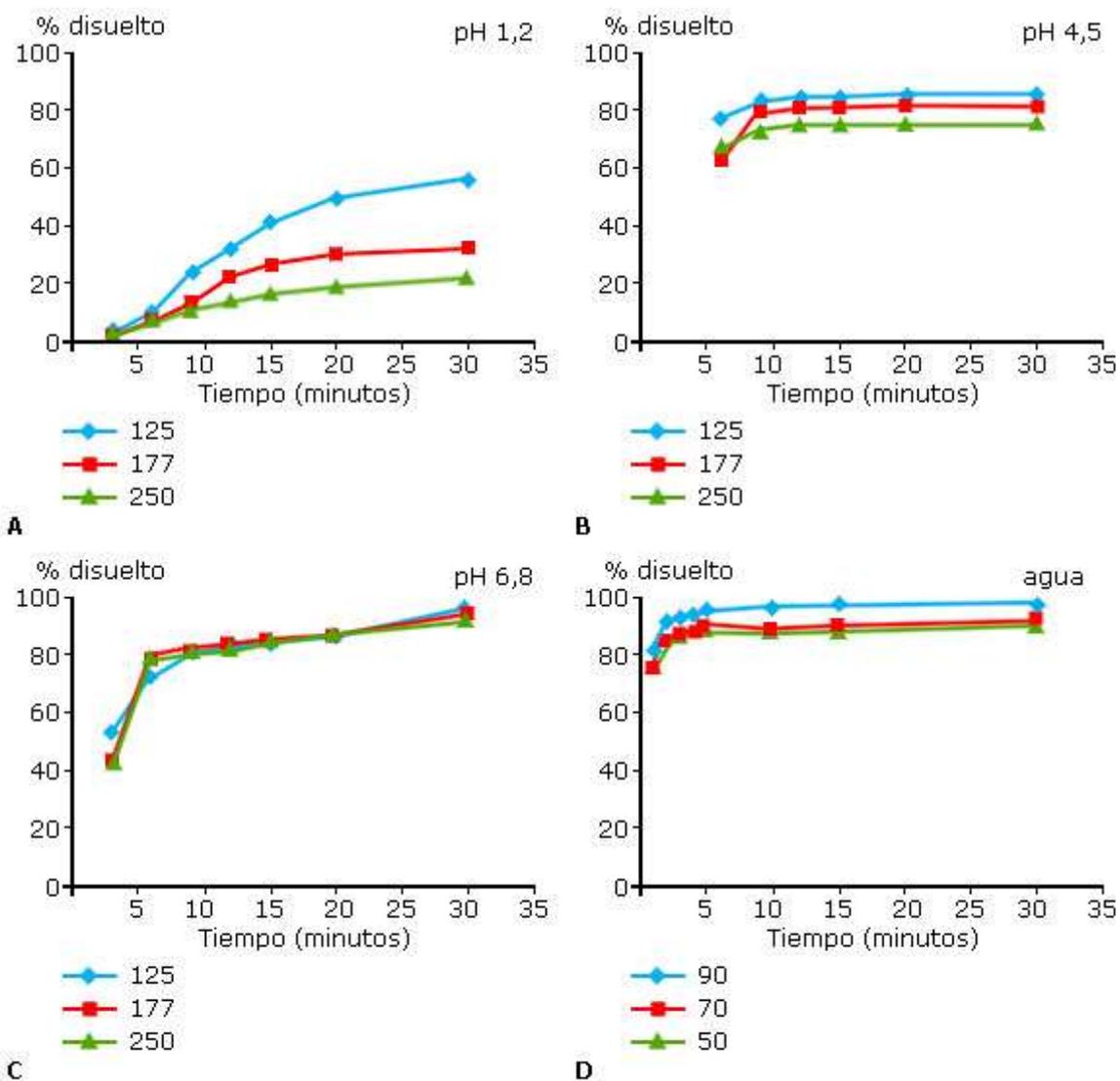
Para determinar la influencia del pH y del tamaño de partícula sobre la disolución *in vitro* de la warfarina, se planteó el diseño experimental factorial que puede observarse en la [tabla 2](#), con dos factores y tres niveles. Se estableció el porcentaje de disolución como variable de respuesta y se tuvo en cuenta la realización de réplicas y la aleatorización.

**Tabla 2.** Diseño experimental

Tamaño de partícula ( $\mu\text{m}$ )	pH 1,2 (% disuelto)	pH 4,5 (% disuelto)	pH 6,8 (% disuelto)
250	24,6	74,9	92,9
	22,4	75,1	91,2
	19,5	77,2	92,6
177	32,5	82,5	94,8
	28,0	82,1	94,1
	35,3	79,2	94,8
125	56,0	84,4	95,7
	55,0	85,1	96,8
	56,4	85,9	97,7

#### PERFILES DE DISOLUCIÓN Y PARÁMETROS DERIVADOS

Los perfiles de disolución para las tres fracciones de diferente tamaño (125  $\mu\text{m}$ , 177  $\mu\text{m}$  y 250  $\mu\text{m}$ ), a pH 1,2, 4,5 y 6,8 en agua, pueden observarse en la [figura](#).



**Fig.** Perfiles de disolución para los tres tamaños de partícula de warfarina: A) pH 1,2; B) pH 4,5 C) pH 6,8; D) agua.

En la [tabla 3](#) se muestran los resultados de la eficiencia de disolución ( $E_d$ ), para cada medio y por fracción de tamaño de partícula.  $E_{d_9}$  corresponde a la eficiencia de disolución calculada a los 9 minutos desde el inicio del ensayo de disolución,  $E_{d_{20}}$  a los 20 minutos y  $E_{d_{30}}$  al tiempo fijado como máximo en este ensayo (tiempo final).

**Tabla 3.** Ed a los 9, 20 y 30 minutos para las diferentes fracciones de warfarina a los diferentes pH y en agua

Fracciones ( $\mu\text{m}$ )	Ed <sub>9</sub>	Ed <sub>20</sub>	Ed <sub>30</sub>	T <sub>50</sub> (minutos)
<b>pH 1,2</b>				
125	7,53	25	34,5	21
177	4,99	17	20,98	más de 30
250	5,47	11	15,82	más de 30
<b>pH 4,5</b>				
125	44	66	73,79	4
177	38,6	61	69,13	4,9
250	38,4	58	65,07	4,5
<b>pH 6,8</b>				
125	47,60	68	77,20	< 3
177	46,97	67,6	76,97	3,4
250	46,41	66,9	76,04	3,5
<b>Agua</b>				
125	96,1	97,7	98,77	< 3
177	93,6	93,9	95,36	< 3
250	92,8	93,2	94,65	< 3

El tiempo correspondiente al 50 % de la disolución para cada fracción se determinó en minutos. Las fracciones en este ensayo de 250 y 177  $\mu\text{m}$ , a pH 1,2 y al tiempo fijado como máximo, no alcanzaron el 50 % del total de warfarina disuelta. Las tres fracciones se disolvieron en agua en menos de tres minutos, al igual que la fracción de 125  $\mu\text{m}$  a pH 6,8.

También se calculó  $D_R$  durante el proceso de disolución, a los mismos tiempos que la  $E_d$ , en todos los medios y para los diferentes tamaños. Debido a su baja  $E_d$ , no fue posible calcular  $D_R$  transcurridos 9 minutos de la disolución, para los medios con pH de 1,2 y de 4,5. Los resultados se muestran en la [tabla 4](#).

**Tabla 4.**  $D_R$  calculado para las diferentes fracciones de warfarina a diferentes pH y en agua

Medio acuoso	$D_R$ (Ed <sub>9</sub> )	$D_R$ (Ed <sub>20</sub> )	$D_R$ (Ed <sub>30</sub> )
pH 1,2	-	1,82	1,87
pH 4,5	-	2,81	2,82
pH 6,8	2,96	2,98	2,97
Agua	2,95	2,93	2,94

## DISCUSIÓN

Los descriptores que se enmarcan dentro de la geometría euclidiana, no describen la superficie de la partícula aunque si su forma, de acuerdo con los descriptores considerados; las partículas de warfarina, independientemente de su tamaño, son elongadas, de acuerdo con los resultados del diámetro de Feret y a la relación de aspecto. Los valores obtenidos de circularidad y redondez, alejados de la unidad, muestran la irregularidad de las partículas.

Todos los valores de RSD superan el 2 %. Los mayores corresponden al diámetro de Feret y a la relación de aspecto (14,69 % y 8,56 % respectivamente), lo que refleja el grado de variabilidad existente entre las partículas de las fracciones de diferente tamaño, en cuanto a su elongación; estos valores de RSD son importantes porque en los procesos de manufactura es necesario garantizar la homogeneidad de las mezclas, siendo particularmente relevante en fármacos con partículas de tamaño pequeño, poco solubles en agua, que se empleen en dosis relativamente pequeñas o presenten variabilidad en el proceso de disolución.

Aunque  $D$  es una herramienta matemática que no se enmarca dentro de la geometría euclidiana, describe la superficie de la partícula. La  $D$  obtenida, igual para las fracciones de diferente tamaño, confirma la autosimilitud entre ellas. El valor de  $D$  (1,5) sugiere que las partículas son irregulares, lo que coincide con los resultados de los descriptores evaluados de forma euclidianos. El valor de  $D_s$  obtenido es mayor de 2, lo cual indica que la superficie de las partículas no es completamente lisa y puede presentar algunos defectos superficiales; siendo este el único parámetro capaz de reflejar que la superficie no es comparable con ninguno de los descriptores de forma determinados.

Los porcentajes de disolución fueron analizados por medio del software estadístico *Statgraphics*<sup>®</sup> y se obtuvieron valores  $P$  menores del 0,05 % para los factores pH y tamaño de partícula (0,00009 y 0,0001 respectivamente). Se comprobó que ambos tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de disolución, con un nivel de confianza del 95 %.

Al considerar el  $T_{50}$  y el porcentaje disuelto, el proceso de disolución es lento e ineficiente a pH 1,2; este valor es muy inferior al  $pK_a$  de la warfarina, es de suponer que la molécula está protonada y no se favorece el proceso.

A pH 1,2,  $D_R$  es menor que  $D_s$ , lo cual implica que el área efectiva disponible para el proceso de disolución disminuye respecto al área superficial. En este caso los valores de  $m$  (2,36 y 2,26 para  $D_{R20}$  y  $D_{R30}$  respectivamente), se relacionan con partículas de superficie relativamente lisa. Paralelo a ello, el valor de  $D_R$  (cercano a 2) concuerda con una superficie poco rugosa; esto indica que en el

proceso de disolución es más importante el tamaño de la partícula que los defectos superficiales y que todos los planos de la partícula contribuyen al proceso, por tanto, una mayor área superficial expuesta (menor tamaño de partícula) favorece la disolución.

Contrario a lo observado en el pH 1,2, los valores de  $D_R$  a pH 4,5 y pH 6,8 son mayores que  $D_s$ ; esto implica un mayor número de sitios reactivos disponibles respecto al área superficial calculada, lo que podría indicar la presencia de grietas, poros o defectos en la superficie que entran en contacto con el medio y participan activamente en el proceso de disolución, con lo cual mejora la eficiencia de este.

Los valores de  $m$  cercanos a cero a pH 6,8 y agua indican una mayor cantidad de poros, grietas o defectos en la superficie de las partículas. Desde la etapa inicial del proceso de disolución, en ambos medios, los valores de  $D_R$  son mayores que  $D_s$ ; posiblemente, al entrar en contacto con el medio y debido a la erosión de la partícula, torna rugosa su superficie. Con  $D_R$  aproximadamente igual a 3, es de esperarse que los sitios generados en la superficie participen activamente en el proceso de disolución y se hace menos dependiente del tamaño de partícula, especialmente en agua, donde la  $E_d$  calculada es alta y poco más o menos igual para todas las fracciones.

Es evidente que a pH 4,5 también hay un cambio en la morfología de la superficie de las partículas, pero se requiere mayor tiempo de contacto con el medio para que ello ocurra.

En el medio recomendado por la Farmacopea,<sup>5</sup> la warfarina presenta una  $E_{d30}$  superior al 98 % (para el menor tamaño de partícula), lo que dista de lo encontrado en los medios evaluados; aunque a pH 6,8 (al igual que en agua) se generan sitios activos que favorecen la disolución de la warfarina, no se alcanza una  $E_d$  similar. A pH 4,5 se requiere mayor tiempo para la generación de sitios activos y a pH 1,2 no se generan sitios activos disponibles para el proceso de disolución.

En agua se obtiene un  $T_{50}$  menor de 3 minutos, independientemente del tamaño de partícula, mientras que a pH 1,2,  $T_{50}$  es muy alto y la  $E_d$  no supera el 35 % en el mejor de los casos.

En conclusión, el comportamiento de la warfarina evidencia la importancia de la revisión del medio de disolución y un adecuado control del tamaño de partícula de la warfarina en las formulaciones que la contengan, con el fin de obtener un proceso de disolución acorde con la realidad.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no presentan conflicto de intereses.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. Babić S, Horvat AJM, Pavlovic DM, Kastelan -Macan M. Determination of pKa values of active pharmaceutical ingredients. Trends Anal Chem. 2007;26:1043-61.
2. Hiskey CF, Melnitchenko V. Clathrates of sodium warfarin. J Pharm Sci. 1965;54:1298-302.
3. Sinai Kunde SD, Bhilegaonkar S, Godbole AM, Gajre P. Biopharmaceutical classification system: A Brief Account. Ijrm Human. 2015;1:20-46.
4. Phunpee S, Puttipipatkachorn U, Rungsardthong Ruktanonchai. Solid-state Characterizations of the inclusion complexes between warfarin sodium and  $\beta$ -Cyclodextrin. Chiang Mai J Sci. 2013;40(6):978-84.
5. The United States Pharmacopeial Convention. The Official Compendia of Standards (USP). Rockville: Mack Printing United States Pharmacopeia Convention Inc; 2014.
6. Mandelbrot BB. The fractal geometry of nature. New York: WH Freeman and Company; 1982.
7. Hickey AJ, Concessio NM. Descriptors of irregular particle morphology and powder properties. Adv Drug Deliv Rev. 1997;26:29-40.
8. Farin D, Avnir D. Reactive fractal surface. J Phys Chem. 1987;91: (55)17-21.
9. Franceschetti G, Riccio D. Scattering natural surfaces and fractals. London: Academic Press; 2007.
10. Farin D, Avnir D. Use of fractal geometry to determine effects of surface morphology on drug dissolution. J Pharm Sci. 1982;81:54-7.
11. Fernández-Hervás MJ, Vela MT, Fini A, Rabasco AM. Fractal and reactive dimension in inert matrix systems. Int J Pharm. 1995;130:115-9.

Recibido: 5 de julio de 2017.

Aprobado: 3 de septiembre de 2017.

*Gloria Elena Tobón Zapata*. Universidad de Antioquia. Barranquilla  
No. 53-108. Departamento de Antioquia. Ciudad de Medellín,  
Colombia.  
Correo electrónico: [elena.tobon@udea.edu.co](mailto:elena.tobon@udea.edu.co)