



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“PARÁMETROS EMPLEADOS EN LA
VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS
PARA PERFILES DE DISOLUCIÓN”**

**TRABAJO ESCRITO VÍA
CURSOS DE EDUCACIÓN CONTINUA
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
PRESENTA
ANGÉLICA ARIAS MATUS**



MÉXICO, D.F.

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: María del Socorro Alpízar Ramos

VOCAL: Georgina Margarita Maya Ruiz

SECRETARIO: Iván Alejandro Franco Morales

1er. SUPLENTE: Verónica Zamora Salazar

2° SUPLENTE: Jorge Rafael Martínez Peniche

FACULTAD DE QUÍMICA

Asesor: María del Socorro Alpízar Ramos

Sustentan: Angélica Arias Matus

ÍNDICE	#Pág.
1.- OBJETIVO E INTRODUCCIÓN	1
2.-INFORMACIÓN GENERAL	3
2.1.- DEFINICIONES DE DISOLUCIÓN	3
2.2.- DISOLUCIÓN	4
2.3.-PRINCIPIO DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA	9
2.3.1.- ESPECTROFOTÓMETRO	12
2.3.2.- COMPONENTES DE UN ESPECTROFOTÓMETRO	12
2.3.3.- ESPECTROFOTÓMETRO ULTRAVIOLETA-VISIBLE	14
2.3.4.- MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	15
2.3.5.- CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR)	16
2.4.- PROTOCOLO DE UN MÉTODO DE DISOLUCIÓN	19
2.5.-ESTUDIOS DE PERFILES DE DISOLUCIÓN COMPARATIVOS	20
2.6.-CONDICIONES EXPERIMENTALES PARA REALIZAR LOS ESTUDIOS DE PERFILES DE DISOLUCIÓN "IN VITRO"	24
2.7.-CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA PERFILES DE DISOLUCIÓN	26
2.8.-DETERMINACIÓN ANALÍTICA	28
2.8.1.-ELECCIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA EVALUAR UN PERFIL DE DISOLUCIÓN	28
2.8.2.- OBJETIVO	29
2.8.3.- ¿CUÁNDO REALIZAR LA VALIDACIÓN?	29
2.8.4.- ALGUNOS CONCEPTOS USADOS EN LA VALIDACIÓN OBTENIDOS DE LA NOM SSA 177-1998	29
2.8.5.-DEFINICIÓN DE PERFIL DE DISOLUCIÓN	31
2.8.6.- PARÁMETROS EMPLEADOS EN LA VALIDACIÓN	

DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA PERFILES DE DISOLUCIÓN	33
3.- DISCUSIÓN	41
4.- CONCLUSIÓN	43
5. – BIBLIOGRAFÍA	44

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL: Mostrar la importancia de los estudios de perfiles de disolución de medicamentos y las condiciones en las cuales se llevan a cabo dichos estudios.

OBJETIVO ESPECIFICO: Dar a conocer los parámetros que se evalúan en la validación de los métodos analíticos utilizados en los estudios de perfiles de disolución.

1 .INTRODUCCIÓN

La optimización de los preparados farmacéuticos para su administración al organismo constituye uno de los objetivos fundamentales de la biofarmacia.

El diseño de un preparado farmacéutico es un problema de gran complejidad, siendo necesario considerar numerosos factores para lo cual se requiere un adecuado análisis de las propiedades físicas y fisicoquímicas de los principios activos y de los excipientes, así como del empleo de métodos in vivo que den cuenta de la biodisponibilidad.^{3,5}

Las experiencias que configuran estos estudios deben considerarse dentro de un sistema integral que tiende a garantizar la calidad del medicamento.

Los métodos analíticos han sido de gran importancia en el desarrollo y evolución de la industria química especialmente en el área farmacéutica, ya que en esta ha sido necesario desarrollar métodos analíticos para poder llevar a cabo la determinación de compuestos y productos de importancia. Es necesario el análisis cualitativo y cuantitativo tanto de los insumos como de las formas farmacéuticas para verificar que cumplan con especificaciones y así asegurar la calidad y seguridad de los medicamentos.

Existen muchos tipos de métodos analíticos tanto cualitativos como cuantitativos, los cuales se emplean para el análisis de diferentes determinaciones como por ejemplo métodos para la valoración, disolución, uniformidad de contenido, etc.^{2,3,5}

Debido a la gran importancia del papel que juegan los métodos analíticos en el campo industrial es necesario que todos estos estén validados, todo método nuevo descrito en un expediente debe ir acompañado de una validación completa. La validación es un paso crítico en un método analítico ya que mediante este se puede asegurar la calidad y confiabilidad de los resultados que se obtienen al emplearlo.

La validación corresponde a un estudio científico de los criterios de confiabilidad de un método analítico los cuales regularmente son:

-Linealidad

-Precisión

-Precisión intermedia

-Exactitud

-Especificidad

-Límite de detección y cuantificación

-Tolerancia

-Robustez

Este trabajo se enfoca en los parámetros de la validación de métodos analíticos para perfiles de disolución.

2.-INFORMACIÓN GENERAL

2.1 Definiciones de disolución:

Según el XXXI Congreso Centroamericano y el Caribe y el XXIV Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas la disolución es¹⁴:

- El proceso por el cual una sustancia sólida entra al disolvente para formar una solución (Fig.1).
- Proceso físico por el cual una sustancia sólida se disuelve(Fig.1).

Finalmente el Congreso Centroamericano y el caribe y el XXIV Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas la definen como¹⁴:

- Prueba física en la cual se mide la capacidad que tiene tanto el fármaco puro (disolución intrínseca), como el que está contenido en una forma farmacéutica sólida, para disolverse en un medio determinado y bajo condiciones experimentales controladas(Fig.1).

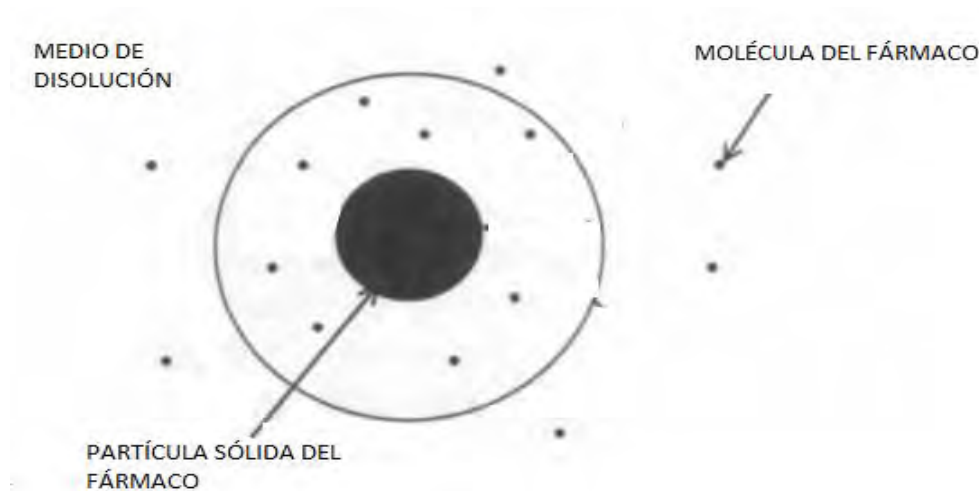


Fig.1: La figura nos muestra de manera muy general como las partículas sólidas (principio activo) dentro de un medio de disolución se desintegra en pequeñas partículas y se disuelven formando una solución para que pueda estar disponible (absorberse) en el sitio de acción.

2.2.- Disolución

Un poco de historia:

- 1987-Noyes y Whitney publican la teoría de la velocidad de disolución.
- 1904- Nernst y Bruner establecen la relación entre la constante de la velocidad de disolución y el coeficiente de la difusión.
- 1931-Hixon y Crowell desarrollan la ley de difusión de raíz cúbica.
- 1934-La Farmacopea Helvética Suiza, es el primer cuerpo regulatorio que introduce una prueba para desintegración de tabletas.
- 1970- Aparece en la USP XVIII la primera prueba oficial de disolución. La USP y la FDA enfatizan la necesidad de obtener una prueba de disolución estandarizada.
- 1975- La USP recomienda dos aparatos para las pruebas de disolución.
Aparato 1 canastillas y Aparato 2 paletas.
- 1978- La USP establece el uso de calibradores
- 1978- La FDA publica Guías para la prueba de disolución. “ Guidelines for dissolution testing”.
- 1990- Se incorporan a la USP XXII aparatos 3, 4, y 5 para la disolución de parches transdérmicos.
- 1995- La USP XXIII incorpora 2 nuevos aparatos para productos de liberación prolongada y reenumera los 7 aparatos.
- 2000- La FDA publica varias guías relacionadas con disolución (<http://fda.gov/cder/guidance.htm>)

Para que un fármaco pueda ser absorbido es necesario que se encuentre en solución, por lo que la forma farmacéutica ejerce influencia en la liberación del fármaco y por ende en los niveles plasmáticos obtenidos.²

Un problema fundamental cuando se administran fármacos en estado sólido es el de la velocidad de disolución del principio activo. La ecuación de Noyes y Whitney se ha empleado tradicionalmente para considerar este fenómeno:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{D * A}{H(Cs-Ct)}$$

Dónde:

dc = Velocidad de disolución.

dt

D = Coeficiente de difusión.

H = Grosor de la capa de difusión en la interfase sólido-líquido.

A = Área de la partícula.

Cs = Concentración de saturación del sólido en el medio de disolución.

Ct = Concentración de la solución a un tiempo *t*.

Se puede incrementar la velocidad de disolución de los principios activos mediante el aumento del área expuesta al medio de disolución: la molienda es una forma de hacerlo.

El aumento de la solubilidad puede lograrse por métodos químicos a través de la formación de sales o complejos, o por procedimientos físicos que actualmente son utilizados por la industria farmacéutica tales como el empleo de mezclas eutécticas, la formación de coprecipitados y, más recientemente, el uso de las ciclodextrinas.^{1,2,3,4}

En la literatura farmacéutica existen muchos ejemplos en los que se muestra la influencia de estos factores en la velocidad de disolución y biodisponibilidad de un gran número de medicamentos.

Si bien, en un comienzo los estudios de disolución fueron concebidos como una herramienta para asegurar la calidad de un producto y la uniformidad de los diferentes lotes de fabricación, hoy día también tienen un nuevo significado: Demostrar que la velocidad de disolución es una herramienta que permite asegurar la bioequivalencia entre medicamentos genéricos, como lo ha establecido la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de América (F.D.A).

Medicamento Genérico: la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo define como el medicamento que es registrado una vez vencida la patente del innovador y que demostró ser bioequivalente con aquel, es decir que demostró tener los mismos efectos terapéuticos que el medicamento original que le sirve de referencia. La especialidad farmacéutica genérica debe demostrar la equivalencia terapéutica con la especialidad de referencia mediante los correspondientes estudios de bioequivalencia que incluyen los específicos de biodisponibilidad. En otras palabras es exactamente igual al original.^{2,3,5.}

Nombre Genérico: La OMS define al nombre genérico de un medicamento o Denominación Común Internacional (DCI), como el verdadero nombre del fármaco haciendo referencia al nombre científico del principio activo con el que se lo reconoce internacionalmente.

Bioequivalencia: dos especialidades de un mismo principio activo son bioequivalentes cuando sus biodisponibilidades son semejantes en tal grado que pueda esperarse que sus efectos sean esencialmente los mismos.

Esto significa que ambos productos pueden ser intercambiados sin merma o modificación de sus efectos terapéuticos y adversos. Internacionalmente

se acepta que a igual biodisponibilidad, los efectos farmacológicos son también iguales.

Biodisponibilidad: es la cantidad y velocidad con que un principio activo alcanza la biofase (sitio de acción). Es decir, en que cantidad y en cuanto tiempo está "disponible" la droga en el sitio de acción. Se determina mediante la curva "concentración / tiempo".^{2,3,4,5.}

La absorción del principio activo de una forma farmacéutica, después de la administración oral, depende de:

- a. La liberación del principio activo a partir de la forma dosificada,
- b. La disolución del principio activo en los jugos digestivos y
- c. La permeabilidad del principio activo a través del tracto gastrointestinal.

Por la importancia de los dos primeros criterios enunciados en el punto anterior, la prueba de disolución "in vitro" puede ser relevante al orientar el comportamiento del producto "in vivo".^{2.}

La justificación de los estudios de disolución "in vitro" se fundamentan en que para lograr una adecuada absorción del medicamento, se requiere que el mismo esté disuelto en el fluido biológico del sitio de absorción, independientemente del mecanismo de absorción a través del cual esto ocurra.^{3.}

En algunos casos de formas farmacéuticas orales cuyos principios activos poseen ciertas propiedades de solubilidad y permeabilidad, el criterio de similitud entre perfiles comparativos de disolución "in vitro", puede ser orientativo de la Equivalencia Terapéutica del producto de prueba comparado con un producto de referencia, el cual ha sido definido de acuerdo a la normativa vigente.^{2,3.}

Debido a la naturaleza crítica de estos primeros dos pasos, la disolución "in vitro" puede ser relevante a la predicción del rendimiento "in vivo" para las formas de dosificación oral sólidas, como comprimidos y cápsulas, para evaluar

como ya se mencionó la calidad de un producto medicinal lote a lote, guiar el desarrollo de nuevas formulaciones, asegurar la calidad y el rendimiento del producto después de ciertos cambios, tales como cambios en la formulación, el proceso de fabricación, el sitio de fabricación y el aumento en escala del proceso de fabricación.^{1,2,3,5.}

La Farmacopea USP ha oficializado las pruebas de disolución, estableciendo los métodos de canastillas (Método **1**) y de paletas (Método **2**).

Cuando se estudian los perfiles de disolución de las formas farmacéuticas hay que establecer el método que se empleará en el control de calidad del producto, y se deberá seleccionar:

- Velocidad de giro del equipo
- Volumen del medio
- Composición del mismo
- Intervalos de muestreo
- Temperatura del medio (37+/- 0.5°C)
- Desgasificación del medio
- Método de análisis para valorar el principio activo que se va liberando y resolver las dificultades analíticas que se puedan presentar.^{2.}

Un caso especial lo constituyen las formas farmacéuticas de liberación prolongada.

Un problema que se presenta con frecuencia, cuando se trata de establecer un método de control de la disolución de una forma farmacéutica sólida, es la baja solubilidad en agua de muchos principios activos.^{2.}

En estos casos, si se emplea agua el proceso de disolución se frena porque la solución se satura rápidamente, a menos que se use un volumen muy grande de líquido o se emplee un procedimiento de continua dilución o de condición "sink", como se denomina.

Las condiciones sink existen cuando el volumen del medio de disolución es de 5 a 10 veces mayor que el volumen requerido para hacer una solución saturada del fármaco.

Los métodos que se emplean en la práctica utilizan lo que se llama una condición "pseudo sink", en el que la concentración del principio activo durante el desarrollo de la prueba no sobrepasa el 20% de la concentración de saturación.

Para lograr esta condición "pseudo sink" se realizan modificaciones en el solvente mediante cambios del pH, el empleo de aditivos como tensoactivos utilizando diferentes solventes.^{2,3,4,5.}

2.3.-Principio de la Espectrofotometría¹³

La espectrofotometría se refiere a métodos cuantitativos de análisis químico que utilizan la luz para medir la concentración de las sustancias químicas. Se conocen como espectrofotometría de absorción visible (colorimetría), ultravioleta, infrarroja, absorción atómica, fluorescencia.

La espectrofotometría es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones químicas y biológicas.

El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia¹³.

Todas las sustancias pueden absorber energía radiante, aun el vidrio que parece ser completamente transparente absorbe radiación de longitudes de ondas que no pertenecen al espectro visible; el agua absorbe fuertemente en la región del infrarrojo¹³.

La absorción de las radiaciones ultravioletas, visibles e infrarrojas depende de la estructura de la molécula, y es característica para cada sustancia química.

Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida; la energía radiante no puede producir ningún efecto sin ser absorbida.

El color de las sustancias se debe a que éstas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y solo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbidas.

La espectrofotometría ultravioleta-visible usa un haz de radiación del espectro electromagnético, en el rango UV de 80 a 400 nm, principalmente de 200 a 400 nm y en el de la luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar los materiales en la región ultravioleta y visible del espectro¹³.

Al campo de luz UV de 200 a 400 nm se le conoce también como rango de UV cercano, la espectrofotometría visible solamente usa el rango del campo electromagnético de la luz visible, de 400 a 800 nm.

Además, no está de menos mencionar el hecho de que la absorción y transmitancia de luz depende tanto de la cantidad de la concentración y de la distancia recorrida.

La Ley de Beer declara que la cantidad de luz absorbida por un cuerpo depende de la concentración en la solución. Por ejemplo, en un vaso de vidrio tenemos agua con azúcar diluida y en otro tenemos un vaso con la misma cantidad de agua pero con una mayor cantidad de azúcar.

El detector es una celda fotoeléctrica, y la solución de azúcar es la que se mide en su concentración¹³.

Según la ley de Beer, si hiciéramos que un rayo de luz atravesara el primer vaso, la cantidad de luz que saldría del otro lado sería mayor que si repitiéramos esto en el segundo; ya que en el segundo, las ondas

electromagnéticas chocan contra un mayor número de átomos y/o moléculas y son absorbidos por estos.

En la Ley de Lambert se dice que la cantidad de luz absorbida por un objeto depende de la distancia recorrida por la luz.

Por ejemplo, retomando el ejemplo de los vasos, pero ahora, pensemos que ambos tiene la misma cantidad de agua y la misma concentración de azúcar, pero, el segundo tiene un diámetro mayor que el otro.

Según la ley de Lambert, si hiciéramos que un rayo de luz atravesara el primer vaso, la cantidad de luz que saldría del otro lado sería mayor que si repitiéramos esto en el segundo; ya que en el segundo, las ondas electromagnéticas chocan contra un mayor número de átomos y/o moléculas y son absorbidos por estos; de la misma forma que se explicó en la ley de Beer¹³.

Las aplicaciones principales son:

- Determinar la cantidad de concentración en una solución de algún compuesto.
- Para la determinación de estructuras moleculares.
- La identificación de unidades estructurales específicas ya que estas tienen distintos tipos de absorbancia (grupos funcionales o isomerías).

2.3.1.-Espectrofotómetro UV-Vis.



Un espectrofotómetro es utilizado en los laboratorios de química tanto para la identificación como para la cuantificación de sustancias.

Este instrumento tiene la capacidad de proyectar un haz de luz monocromática a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra. Esto le permite al operador realizar dos funciones:

1. Dar información sobre la naturaleza de la sustancia en la muestra
2. Indicar qué cantidad de la sustancia está presente en la muestra.

2.3.2.-Componentes de un espectrofotómetro¹³

Fuente de luz

La fuente de luz que ilumina la muestra debe cumplir con las siguientes condiciones: estabilidad, direccionalidad, distribución de energía espectral continua y larga vida. Las fuentes empleadas son: lámpara de wolframio (también llamado tungsteno) para el visible, lámpara de deuterio para UV.¹³

Monocromador

El monocromador aísla las radiaciones de longitud de onda deseada que inciden o se reflejan desde el conjunto, se usa para obtener luz monocromática.

Está constituido por las rendijas de entrada y salida, colimadores y el elemento de dispersión. El colimador se ubica entre la rendija de entrada y salida. Es un lente que lleva el haz de luz que entra con una determinada longitud de onda hacia un prisma el cual separa todas las longitudes de onda de ese haz y la longitud deseada se dirige hacia otra lente que direcciona ese haz hacia la rendija de salida¹³.

Compartimiento de Muestra

Es donde tiene lugar la interacción, radiación electro magnética con la materia (debe producirse donde no haya absorción ni dispersión de las longitudes de onda). Es importante destacar, que durante este proceso, se aplica la ley de Lambert-Beer con base en sus leyes de absorción, en lo que concierne al paso de la molécula de fundamental-excitado¹³.

Detector

El detector, es quien detecta una radiación y a su vez lo deja en evidencia, para posterior estudio. Hay de dos tipos: los que responden a fotones y los que responden al calor.

Registrador

Convierte el fenómeno físico, en números proporcionales al analito en cuestión.

Fotodetectores

En los instrumentos modernos se encuentra una serie de 16 fotodetectores para percibir la señal en forma simultánea en 16 longitudes de

onda, cubriendo el espectro visible. Esto reduce el tiempo de medida, y minimiza las partes móviles del equipo¹³.

2.3.3.-Espectrofotómetro ultravioleta-visible

El instrumento utilizado en la espectrometría ultravioleta-visible se llama espectrofotómetro UV-Vis. Mide la intensidad de luz que pasa a través de una muestra (I), y la compara con la intensidad de luz antes de pasar a través de la muestra (I₀). La relación I / I₀ se llama transmitancia, y se expresa habitualmente como un porcentaje (%T). La absorbancia (A) se basa en la transmisión:

$$A = - \log (\%T)$$

Las muestras para espectrofotometría UV-Vis suelen ser líquidas, aunque la absorbancia de los gases e incluso de los sólidos también puede medirse¹³.

Las muestras se colocan en una celda transparente, las celdas suelen ser rectangulares, con una anchura interior de 1 cm. Esta anchura se convierte en la longitud de ruta, L, en la Ley de Beer-Lambert. También se pueden usar tubos de ensayo como celdas en algunos instrumentos. Las mejores celdas están hechas con cuarzo de alta calidad, aunque son comunes las de vidrio o plástico. El cristal y la mayoría de los plásticos absorben en el UV, lo que limita su utilidad para longitudes de onda visibles¹³.

2.3.4.- Métodos cromatográficos

Este tipo de técnica se basa en la separación de los solutos mediante la interacción fisicoquímica de estos con una fase móvil la cual puede ser un líquido

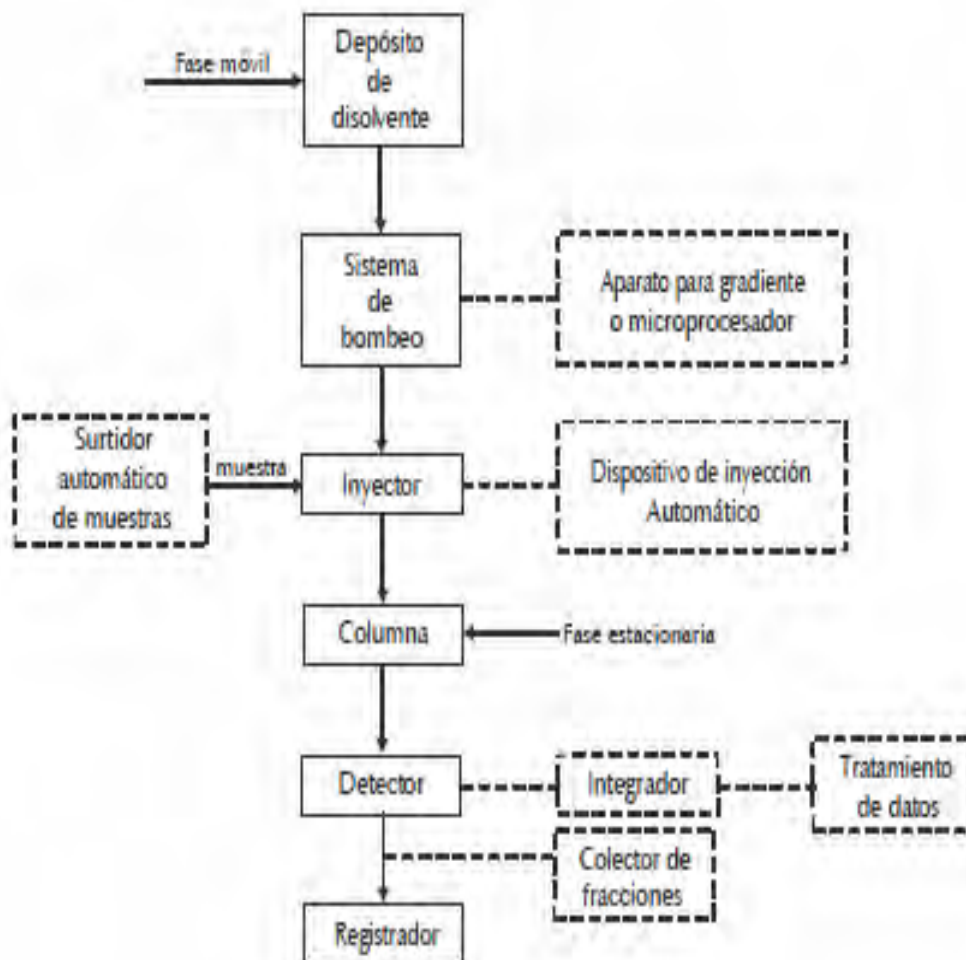
o gas y una fase estacionaria. La separación de los compuestos permite aislar a cada componente de una matriz para poder identificar cada uno de ellos así como cuantificarlos, incluyendo también los productos de degradación.

Por lo anterior este tipo de métodos son los más utilizados en los estudios de disolución, se utiliza mayormente la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), por su rapidez y sencillez y su bajo costo comparándolo con otras técnicas como cromatografía de gases que se utiliza siempre y cuando nuestro compuesto sea volátil ¹¹.

En la mayoría de los laboratorios farmacéuticos se emplean las técnicas cromatográficas (separación de solutos) combinadas con espectrofotometría (detección de solutos) ya que dan buenos resultados debido a que son capaces de cuantificar cantidades en ocasiones en el orden de picogramos, esto le da un gran enfoque a los estudios de estabilidad ya que se puede saber si a un principio activo le ocurren cambios por muy pequeños que estos sean¹¹.

2.3.5.- Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

El principio de esta técnica se describe en el siguiente esquema¹¹:



La migración diferencial en la CLAR es el resultado del equilibrio de distribución de los componentes de una mezcla entre la fase estacionaria y la fase móvil.

Dichos componentes se separan en la columna por diferentes tipos de interacción, luego al salir de ésta son conducidos por la fase móvil en el orden en que emergieron, hacia un detector donde se registra una respuesta proporcional a su cantidad, sus concentraciones y sus tiempos de retención en la columna.

El cromatograma resultante muestra cada compuesto que sale de la columna en forma de picos simétricos con un tiempo de retención característico por lo que este tiempo puede emplearse para identificar el compuesto, este tiempo de retención (t_r) se mide desde el momento de inyección de la muestra hasta el momento en que aparece el máximo del pico en el cromatograma.

Los mecanismos o procesos de separación tienen como resultado la retención de las moléculas de una muestra por parte de la fase estacionaria originando los diferentes métodos de cromatografía líquida, esto es, líquido-líquido o de partición, que consta de una fase estacionaria líquida de composición distinta a la de la fase móvil e inmiscibles, las moléculas de la muestra se distribuyen entre ambas fases.

La cromatografía líquido sólido o también conocida como de adsorción incluye partículas de gran área superficial donde las moléculas son atraídas y por consecuencia retenidas.

La cromatografía de intercambio iónico, en la cual la fase estacionaria contiene grupos iónicos fijos, junto con iones de carga opuesta (contraión), estos están presentes en la fase estacionaria en forma de sales los cuales llevan a cabo el intercambio con la molécula de interés siempre y cuando tenga carga.

La cromatografía de exclusión molecular, en la cual el empaque es un material poroso donde el tamaño del poro está bien definido. De esta manera, las moléculas que son demasiado grandes para el poro eluyen entre las partículas y salen más rápido de la columna, mientras que las pequeñas penetran en los poros aumentando su recorrido y prolongando su tiempo de retención.

Existen algunas modificaciones a los tipos de cromatografía como la llamada fases enlazadas en la cual la fase estacionaria está unida químicamente a las partículas de soporte.

Este empaque se puede considerar de los más empleados, ya que es muy estable y la fase estacionaria no se pierde fácilmente por el uso.

Esta variante de cromatografía puede llevarse a cabo en fase normal o fase reversa.

En la primera se utilizan empaques polares que funcionan por adsorción, la fase reversa involucra una fase estacionaria poco polar como cadenas de hidrocarburos unidas a grupos polares del soporte y se utiliza con fases móviles muy polares para separar compuestos poco polares.

El éxito en la aplicación de la CLAR para un compuesto dado depende de la combinación correcta de las condiciones de operación, es decir, la preparación de la muestra, el tipo y longitud de columna (fase estacionaria), la fase móvil, la velocidad de flujo de la fase móvil y el tipo de detección así como el algoritmo de integración.

Finalmente podemos decir que en el método de CLAR se determina:

-Factor de coeio: Valor que nos indica que tan simétrico es nuestra respuesta o señal (pico), un valor de 1 indica que la respuesta es totalmente simétrica.

$$T = \frac{W0.05}{2f}$$

-Factor de capacidad: Valor que indica la diferencia entre la retención del compuesto en la columna y la del frente de solvente; refleja que tanto se retiene el compuesto en el sistema, valores por arriba de 2 indican una buena retención.

$$K' = \frac{t}{t_0} - 1$$

-Platos teóricos: Valor que indica la eficiencia de una columna cromatográfica, obtenido o dado por el número de interacciones entre el compuesto y la fase estacionaria.

$$N = 16 \left[\frac{t}{W} \right]^2$$

-Resolución: Aplica cuando se obtienen dos o más señales e indica la separación entre los picos; el valor mínimo óptimo es d 2.

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} \quad \text{ó} \quad \alpha = \frac{t_2 - t_0}{t_1 - t_0}$$

2.4.- Protocolo de un método de perfil de disolución

- **Tipo de método:**

Compendial o no compendial

- **Elección del tipo de aparato**

Aparato 1 canastilla; Aparato 2 paletas

- **Hidrodinamia :**

Requerida para un estudio efectivo y adecuado

- **Tipo y velocidad de agitación**

- **Consideraciones del medio:**

Volumen, carácter iónico, gases disueltos. surfactantes, enzimas, etc.

- **Temperatura del medio**

- ***Método analítico y procedimientos***

Existen diversos métodos de análisis como por ejemplo los cromatográficos (HPLC), UV, volumétricos, entre otros.

- **Muestreo:**

Filtración, o no, tipo de filtro y procedimiento de filtrado, instrumento de muestreo: interno o externo, rígido/flexible, vidrio/Tygon, etc. automático o manual, almacenamiento de muestras o análisis en línea, diferentes hidrodinámicas/retos.

- **Intervalos de muestreo/puntos:**

Simple vs múltiple, nivel de desarrollo del producto.

2.5.-Estudios de perfiles de disolución comparativos

Generalidades:

El estudio de perfiles de disolución comparativos debe ser diseñado para evaluar el comportamiento de productos **equivalentes farmacéuticos** de manera que permita discriminar las diferencias entre los dos productos ensayados.

Debido a que el pH, la temperatura, la agitación, la composición y el volumen del medio de disolución son variables que afectan significativamente el comportamiento “in vitro” del medicamento, el diseño del estudio debe corresponder a las condiciones fisiológicas. Dichas condiciones corresponden a:

- pHs similares a los del jugo gástrico e intestinal y un pH intermedio.
- Temperatura del medio de $37\text{ °C} \pm 0.5\text{ °C}$.
- Volumen del medio de 900 mL, salvo excepciones en que se justifique un volumen diferente, siempre que este no sea menor de 500 mL.
- rpm es decir la velocidad de agitación.

Los equipos de disolución que se aceptan para este tipo de estudios son el aparato 1 y 2 de la USP. Las características y especificaciones de estos equipos deben estar estandarizadas para controlar las variables físicas que puedan afectar los resultados por ejemplo vibraciones y otros factores que afectan las propiedades hidrodinámicas.

La estandarización incluye el proceso de calificación y calibración del equipo. Existen tabletas calibradoras de prednisona (desintegrantes) y de ácido salicílico (no desintegrantes).

Calibración mecánica de los aparatos 1 y 2:

La calibración mecánica del equipo, requiere de una serie de instrumentos certificados que son: termómetro o termopar, medidor de vibraciones dispositivo calibrador para centrado, medidor de profundidad, tacómetro, medidor de bamboleo o balanceo, medidor de desviación de la vertical, medidor de nivel horizontal y cronómetro.

Puntos generales a considerar/verificar

Equipo/ Vibración	Debe colocarse en una superficie , plana, nivelada, en un lugar aislado de fuentes externas de vibración. La banda sin fin debe estar libre de tensión y limpia. Revisar poleas. Revisar vasos para detectar rayones, superficie interior rugosa u otras variaciones. Revisar canastillas, paletas y flechas para evitar rayones, deformidades, suciedad y otras variaciones. Todo debe cumplir satisfactoriamente con especificaciones.
Medio de disolución	Los medios típicos de disolución pueden incluir: -Agua purificada -Solución ácido clorhídrico 0,1 N -Soluciones amortiguadoras de pH (1,2 ; 4,8 y 7,5) -Fluidos gástricos o intestinales simulados (con o sin enzimas) -Soluciones con tensoactivo (polisorbato 80, lauril sulfato de sodio, sales biliares) Verificar pH, contenido de sales, molaridad, temperatura correcta y otras variables. Emplear el volumen especificado, medido con exactitud
Técnica de disolución	Extracción de muestras en tiempo, lugar y volumen correctos. Validar filtros y sondas para eliminar posibilidad de adsorción y/o liberación de sustancias con respecto al filtro. Jeringa de material inerte individual para cada vaso. Todo el material y equipo debe estar escrupulosamente limpio, sin deformidades.

Calibración mecánica de los aparatos 1 y 2

Variable	Máximo permitido	Control	Observaciones
Linealidad del dispositivo de agitación (canastillas, paletas)	± 1 mm	Establecer programa de verificación y control	Medir a lo largo del eje. Guardar los vástagos y/o paletas en un soporte adecuado para conservarlos derechos o alineados
Alineamiento o verticalidad de los agitadores a 90°	1,5° con respecto a la perpendicular	Ajustar alineamiento y nivelación	Guardar los vástagos y/o paletas en un dispositivo adecuado para conservarlos derechos o alineados.
Balaceo o bamboleo de las flechas o vástagos	Sin bamboleo	Ajustar alineamiento y nivelación. Verificar pernos, ejes, poleas, correas.	Es el balaceo o desviación de la vertical con las flechas en movimiento rotatorio. En el caso de canastilla se observa a la altura donde éstas terminan. En el caso de paletas se observa donde termina el vástago o eje transmisor.
Centrado de los agitadores	± 2 mm	Centrar cada vaso individualmente	Verificar posición y estado del perno colocado de fábrica y la posición de cada vaso.
Medida de profundidad	25 mm \pm 2 mm	Medir individualmente	Distancia entre el fondo del vaso y la canastilla o paleta
Velocidad de los dispositivos de agitación	$\pm 4\%$ con respecto a la especificada en la monografía	Establecer un programa de verificación y control	Emplear tacómetro calibrado.

Nivelación horizontal del equipo	$\pm 0,5^\circ$	Establecer un programa de verificación y control	Realizar las mediciones en varios puntos del equipo y de la mesa donde está colocado
Vibración	0,00254 mm como desplazamiento	Detectar y eliminar la fuente, sea interna o externa	Verificar que siempre se mantenga al mínimo
Temperatura	$\pm 0,1^\circ\text{C}$	Termo par calibrado	

Procedimiento:

Para cápsulas, tabletas no recubiertas y recubiertas, colocar el volumen del medio de disolución indicado para cada producto, en el vaso de aparato, calentar y permitir que la temperatura del medio se equilibre. Colocar la o las unidades de dosis en el aparato sin provocar burbujas, y operar el aparato inmediatamente a la velocidad y tiempo indicados en la monografía del producto. Si se utiliza el *Aparato 1*, la unidad de dosis se coloca en la canastilla seca y ésta en el aparato, antes de iniciar la operación. En el caso de utilizar el *Aparato 2*, la muestra se deposita en el fondo del vaso antes de iniciar la rotación de la paleta. Cuando transcurra el tiempo establecido, tomar la alícuota necesaria para la determinación, en la zona intermedia entre la superficie del medio de disolución y la parte superior de la canastilla o la paleta y a no menos de 10 mm de la pared del vaso. Filtrar inmediatamente. El filtro debe ser inerte, sin causar absorción significativa del ingrediente activo de la solución, no debe contener materiales extraíbles por el medio de disolución y no debe interferir con los procedimientos analíticos prescritos. Si dos o más tiempos de muestreo son indicados en la monografía específica del producto, tomar la alícuota solamente en los tiempos establecidos dentro de una tolerancia de ± 2 por ciento.

Cuando las cápsulas o el recubrimiento de las tabletas interfieran en el análisis, remover el contenido de no menos de 6 cápsulas tan completamente como sea posible, o en el caso de tabletas recubiertas, retirar cuidadosamente la

cubierta de seis tabletas mediante un método adecuado. Disolver las cápsulas vacías o las cubiertas de las tabletas recubiertas en el volumen del medio de disolución indicado en la monografía del producto, proceder como se indica en la preparación de la muestra, lo cual servirá como blanco de corrección. El promedio de este valor servirá como factor de corrección y no debe ser mayor del 25 por ciento del contenido indicado en el marbete.

Cuando en la monografía individual se especifique que se debe hacer una muestra compuesta, proceder como se indica para cápsulas, tabletas recubiertas y tabletas no cubiertas, combinar volúmenes iguales de las soluciones filtradas de las seis muestras tomadas de forma individual, y usar la mezcla de las muestras como solución de prueba. Determinar la cantidad del ingrediente activo disuelto en la muestra compuesta.

El método de disolución empleado para realizar el estudio in vitro debe estar validado de acuerdo con los requerimientos de la normativa en esta materia y sus actualizaciones^{2,4,9}.

2.6.-Condiciones experimentales para realizar los estudios de perfiles de disolución “in vitro”.^{2,4,9}

Los estudios de disolución “in vitro” del producto de referencia y del producto de prueba deben realizarse bajo las siguientes condiciones:

Equipo: El aparato de canasta, aparato 1 de la USP, se prefiere para cápsulas y otros productos con tendencia a flotar.

El aparato de paleta, aparato 2 de la USP, se prefiere para tabletas a menos que, debido a la forma en que se desintegran, se observe una acumulación de las partículas en el fondo del vaso; en este último caso puede utilizarse el aparato de canasta.

El aparato de disolución que se utilice debe cumplir con las especificaciones y requerimientos establecidos en el capítulo <711> de la USP (6) y estar calificado y calibrado.

Agitación: 100 rpm si se utiliza el aparato 1 y 75 rpm si se utiliza el aparato 2.

Volumen: 900 mL. Salvo excepciones en que se justifique un volumen diferente, siempre que este no sea menor de 500 mL.

Temperatura: $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Número de unidades a evaluar: 12.

Medios de disolución:

Para efectos de determinar similitud, el estudio de disolución “in vitro” se debe realizar en cada uno de los siguientes medios:

- Solución de HCl a pH 1,2. Preparado de acuerdo a las especificaciones de la USP para fluido gástrico simulado sin enzima (FGS).
- Solución amortiguadora de acetato a pH 4,5. Preparado de acuerdo a la USP.
- Solución amortiguadora de fosfato a pH 6,8. Preparado de acuerdo a las especificaciones de la USP para fluido intestinal simulado sin enzima (FIS).

La adición y la concentración de agentes tensoactivos (surfactantes) en caso de medicamentos insolubles o poco solubles en agua, debe estar ampliamente justificada.

- **Tiempos de Muestreo:** La frecuencia y el tiempo total de muestreo tanto del producto de prueba como el de referencia debe permitir la obtención de un perfil adecuado de disolución para poder aplicar los criterios de similitud.

Los tiempos de muestreo deben ser exactamente los mismos para ambos productos. (innovador y genérico).^{2,4,9.}

Se recomiendan los siguientes tiempos:

- Formas dosificadas de liberación inmediata 10, 15, 20, 30, 45, 60 minutos.
- Formas dosificadas de liberación prolongada de 12 horas 1, 2, 4, 6 y 8 horas.
- Formas dosificadas de liberación prolongada de 24 horas 1, 2, 4, 6, 8 y 16 horas.
- Se procede al análisis como marque el respectivo método, puede ser compendial o no compendial.
- Los cálculos sólo deben considerar una muestra más después de que cada producto (prueba y referencia) se disuelva en un 85%. Los cálculos deben incluir el primer tiempo de muestreo.

2.7.-Criterios de aceptación para perfiles de disolución^{2,9}:

Los resultados se considerarán válidos si se cumplen las siguientes condiciones:

- Los datos utilizados para obtener la curva del perfil de disolución deben expresarse como porcentaje (con al menos un decimal más de la cantidad declarada en la etiqueta).
- Se utiliza el porcentaje disuelto, al mismo tiempo de muestreo, de al menos 3 puntos de la curva para cada producto, excluyendo el tiempo cero.
- Sólo se utiliza un valor adicional después del 85% de disolución de ambos productos.
- El coeficiente de variación del promedio no debe ser mayor del 20% para el primer valor utilizado en la fórmula y no debe ser mayor del 10% para los siguientes valores.

- El análisis comparativo de los perfiles de disolución se debe hacer utilizando el factor de similitud, f_2 , y el de diferencia, f_1 , los cuales se calculan con las siguientes ecuaciones:

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

Dónde:

R_t y T_t = Valores promedio del porcentaje acumulado de principio activo disuelto (12 unidades), a tiempo t , para el producto de referencia y el producto de prueba respectivamente.

$$f_1 = \frac{\sum_{j=1}^n R_j - T_j * 100}{\sum_{j=1}^n R_j}$$

Dónde:

n = Número de tiempos de muestreo

R_t = Valor de disolución del producto de referencia en el tiempo

j y T_t = Valor de disolución del producto de prueba en el tiempo j .

- **Criterios de evaluación:**

La similitud de los perfiles de disolución obtenidos bajo las condiciones señaladas en las secciones anteriores, se evalúa con el siguiente criterio:

Un valor de f_2 de 50 o mayor (50-100) refleja la similitud de las dos curvas y así la equivalencia del desempeño in Vitro de los dos productos.

El factor de diferencia calcula el porcentaje de diferencia entre dos curvas en cada tiempo y es una medida del error relativo entre dos curvas. Dicha diferencia se evalúa con el siguiente criterio:

Un valor de **f1** de 0 a 15 inclusive indica que no hay diferencia significativa entre las dos curvas^{2,3,4,9}.

2.8.-Determinación analítica

Previo a la realización del ensayo de disolución se debe realizar la validación del método con el que se van a determinar las muestras. Para ello es necesario realizar una búsqueda bibliográfica exhaustiva, con el fin de conocer las características químicas del principio activo, y encontrar el método de análisis o datos que puedan facilitar su obtención.

Con frecuencia el método tendrá que ser desarrollado completamente por el laboratorio investigador por falta de información.

Los métodos más frecuentemente utilizados son el espectrofotométrico UV y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con diferentes sistemas de detección (ultravioleta, fluorométrico, masas, etc.) según el fármaco a determinar.

2.8.1.-Elección de un método analítico para evaluar un perfil de disolución:

Para la elección de un método analítico es necesario tener información sobre las propiedades fisicoquímicas del producto que se va a analizar, con base en esto se puede elegir el más adecuado para el análisis con las siguientes características:¹¹.

- Sensible
- Selectivo
- Preciso
- Económico
- Tiempo de análisis
- Seguro (que implique los menores riesgos para el analista)

Una vez que se ha elegido el método se procede a validarlo con el fin de tener evidencia documentada de que éste arroja datos confiables.

2.9.2. Validación de métodos analíticos

Según la Guía de validación del Colegio Nacional de QFB's validación se define como: Proceso por el cual se demuestra por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los registros para la aplicación analítica deseada.

Validación: Proceso por medio del cual un método analítico es retado por quién desarrolla el método, o por quien lo utiliza, con la finalidad de establecer su eficiencia, exactitud, y precisión para el objeto que fue diseñado⁴.

Es la confirmación mediante suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista.

2.8.2.- Objetivo

El objetivo de la validación es contar con evidencia documentada de que el método analítico cumple con el propósito para el cual fue desarrollado.

2.8.3.- ¿Cuándo realizar la validación?

Se debe de validar un método analítico cuando éste se desarrolló y si está validado debe revalidarse si hay cambios en:

- * La síntesis del principio activo.
- * La composición del producto terminado.
- * El método analítico.
- * Cambios en la producción de la forma farmacéutica.

Dependiendo de los cambios que hayan ocurrido es el grado de revalidación que debe de realizarse⁶.

2.8.4.- Algunos conceptos usados en la validación obtenidos de la NOM SSA 177-1998.

***Adecuabilidad del sistema.**- Verificación de que el sistema (instrumento analista, equipo, sustancia de referencia, entre otros) opera

con base en criterios preestablecidos, que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados de los resultados de un método analítico.

* **Analito.-** Componente específico de una muestra, a medir en un análisis.

* **Calibración.-** Conjunto de operaciones que determinan, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medición material y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.

* **Documentación.-** Conjunto de información que sustenta una actividad realizada.

* **Especificaciones.-** Descripción del material, sustancia o producto que incluye la definición de sus propiedades y características, con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.

* **Método analítico.-** Descripción de la secuencia de actividades, recursos, materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.

* **Método analítico oficial.-** Método que aparece en la literatura oficial reconocida.

* **Método analítico no oficial.-** Método que no aparece en la literatura oficial reconocida.

* **Muestra.-** Porción del material a evaluar.

* **Muestra analítica.-** Porción del material a evaluar de acuerdo al método analítico.

* **Muestra adicionada.-** Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito.

* **Parámetros de desempeño.-** Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación.

* **Placebo analítico.-** Muestra que contiene todos los componentes de un producto a excepción del analito.

* **Placebo adicionado.-** Muestra de un placebo analítico al cual se le adiciona una cantidad conocida del analito.

* **Protocolo de validación.-** Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.

* **Recobro.-** Cantidad del analito determinada en el placebo adicionado o muestra adicionada, empleando el método analítico.

* **Sustancia de referencia.-** Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con la sustancia en evaluación.

* **Sustancia de referencia primaria.-** Sustancia que es designada o reconocida por tener la más alta calidad metrológica, cuyas propiedades se aceptan sin referencia a otras sustancias.

* **Sustancia de referencia secundaria.-** Sustancia cuyas propiedades se asignan por comparación con una sustancia de referencia primaria.

2.8.5.-Definición de perfil de disolución^{1,2}:

Es la determinación experimental de la velocidad o cantidad con la que el principio activo se disuelve en todo un intervalo de tiempo, bajo condiciones experimentales controladas a partir de la forma farmacéutica.

De acuerdo a la solubilidad y permeabilidad los fármacos se clasifican en:

Clase 1	Alta solubilidad Alta permeabilidad
Clase 2	Baja solubilidad Alta permeabilidad
Clase 3	Alta solubilidad Baja permeabilidad
Clase 4	Baja solubilidad Baja permeabilidad

El sistema de clasificación biofarmacéutica de los fármacos (SCB) permite establecer los requerimientos que deben satisfacer las formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata, para garantizar eficacia y seguridad, sobre la base de las propiedades fisicoquímicas de los fármacos.^{2,3.}

La SCB sugiere que los casos 1 y 3 la disolución del 85% en HCl 0.1N en 15 minutos puede asegurar que la biodisponibilidad del fármaco no está limitada por la disolución. En estos casos el paso limitante de la absorción del fármaco es el vaciamiento gástrico.

Si la disolución es más lenta que el vaciamiento gástrico, se recomienda un perfil de disolución con puntos múltiples en multimedios.

Caso 2. La disolución del fármaco puede ser el paso limitante, se recomienda un perfil de disolución con múltiples puntos.

Caso 3. En este caso el paso limitante es la permeabilidad y depende de las velocidades relativas de disolución y tránsito intestinal.

Caso 4. Presenta grandes problemas la liberación del fármaco por vía oral.

2.8.6.- Parámetros empleados en la validación de métodos analíticos para perfiles de disolución.

En el caso de la validación de métodos analíticos lo primero que se debe hacer es definir qué es lo que se va a validar, es decir plantear el objetivo para el cual se ha diseñado el método analítico, su descripción y su utilidad.

Dependiendo de la naturaleza del método analítico es como se deben definir las características de la validación, los experimentos necesarios y establecer los criterios de aceptación. Una vez que se tiene definido lo anterior se elabora un plan de trabajo conocido también como protocolo de validación en el cuál se describen las pruebas que se van a realizar especificando la manera de llevar a cabo cada una de ellas, se realiza la validación y se genera un reporte con los resultados al término de ésta^{4, 6, 7, 11}.

Los parámetros pueden variar dependiendo el propósito de cada método por lo que se tiene que evaluar éste y ver que pruebas se tienen que realizar.

Según ICH Q2A "Text on validation of analytical procedures", 1995; las pruebas que se le realizan a los métodos en la validación⁶:

PRUEBA	TIPO DE MÉTODO			
	IDENTIFICACIÓN	VALORACIÓN	IMPUREZAS	
			CUANTIFICACIÓN	LÍMITE
Exactitud	-	+	+	-
Precisión	-	+(1)	+(1)	-
Repetibilidad				
Precisión intermedia	+	+	+	+
Especificidad(2)	+	+	+	+
Límite de cuantificación	-	-(3)	-	+
Límite de detección	-	-	+	-
Linealidad	-	+	+	-

(-) Significa que no se evalúa

(+) Significa que se evalúa

(2) Falta de especificidad puede ser compensada por otro método

(1) Si se hace reproducibilidad no es necesario

(3) Puede ser necesario

En el caso de los métodos analíticos usados en estudios de perfiles de disolución deben evaluarse los siguientes parámetros ^{4, 6, 7, 11}.

- * Linealidad
- * Precisión
- * Precisión intermedia
- * Exactitud
- * Especificidad

- * Límite de detección y cuantificación
- * Robustez
- * Estabilidad de la muestra

Linealidad

Definición:

Es la habilidad de un sistema o método analítico que asegura que los resultados obtenidos son directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo definido¹¹.

La linealidad de un método analítico se conoce como la capacidad de este de obtener resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra (dentro de un rango)⁶.

Procedimiento:

En esta prueba se determina la linealidad del sistema de la siguiente manera:

* Se realiza una curva de calibración (concentración vs respuesta), utilizando al menos 5 puntos (5 niveles de concentración dependiendo del método analítico) preparados por dilución de una solución stock la cual se prepara con estándar de pureza conocida, realizando el análisis por lo menos por duplicado de cada uno de los puntos.

El intervalo entre las concentraciones utilizadas debe de cubrir el 100 %, y todos los % disueltos encontrados en el perfil de disolución^{4, 6, 11}.

* Una vez obtenida la curva se obtiene^{4, 6, 7, 11}:

1.- Valor cero que debe quedar incluido en el intervalo de confianza al 95 % para la ordenada al origen.

2.- Valor uno que debe quedar incluido en el intervalo de confianza al 95% para la pendiente.

Criterios de aceptación

3.- (r) el cual debe ser mayor o igual a 0.99

4.- (r^2) el cual debe ser mayor o igual a 0.98

5.- Error relativo a la regresión no mayor a 2 %

Para la Linealidad del método

* Para esta se cargan placebos con al menos tres diferentes cantidades del analito, se preparan de manera independiente, y se realiza por triplicado el análisis. Las concentraciones elegidas para cargar los placebos deben de estar dentro del intervalo utilizado en la linealidad del sistema, incluyendo claro la concentración al 100 %. Con los datos obtenidos se realiza una gráfica (concentración vs respuesta) y se obtiene^{4, 6, 7, 11.}

Criterios de aceptación

1.- Valor cero que debe quedar incluido en el intervalo de confianza al 95 % para la ordenada al origen.

2.- Valor uno que debe quedar incluido en el intervalo de confianza al 95% para la pendiente.

3.- (r) el cual debe ser mayor o igual a 0.99

4.- (r^2) el cual debe ser mayor o igual a 0.98

5.- Error relativo a la regresión no mayor a 3 %

Precisión

Definición:

Se conoce como el grado de concordancia entre una serie de determinaciones obtenidas de repetir el análisis de una muestra homogénea. Se evalúa la repetibilidad⁷.

Procedimiento

La precisión del sistema se evalúa con los datos de la linealidad del sistema^{4, 6, 7, 11}.

Criterios de aceptación

*Una vez obtenidos los resultados se calcula el factor respuesta y el coeficiente de variación el cual no debe ser mayor a 3%.

La precisión del método:

Esta se evalúa con los datos de la linealidad del método obteniendo los % de recobro para cada punto.^{4, 6, 7, 11}.

Criterios de aceptación

* Una vez obtenidos los resultados se calcula el coeficiente de variación el cual no debe ser mayor a 3% para todos los niveles.

Precisión intermedia

Definición:

En esta se evalúa la reproducibilidad del método que es el grado de concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo diferentes condiciones como diferente día y diferente analista⁷.

Procedimiento

Se determina mediante el análisis por triplicado de una muestra homogénea del producto final, valorada por dos analistas y en dos días diferentes utilizando el mismo equipo y las otras condiciones^{4, 6, 7, 11}.

Criterios de aceptación

* Una vez obtenidos los resultados, estos no deben de presentar un coeficiente de variación mayor a 3%.

Exactitud

Definición:

La exactitud de un método analítico representa la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el % de recobro obtenido en el análisis de muestras a las que se le ha adicionado cantidades conocidas del analito^{7, 11}.

Procedimiento

Se determina con los datos obtenidos en la linealidad del método^{4, 6, 7, 11}.

Criterios de aceptación

* Una vez obtenidos los resultados del análisis se evalúa % de recobro debe estar entre (97,0 a 103,0 %), con un coeficiente de variación no mayor a 3% para cada punto.

Especificidad

Definición:

Es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.

La respuesta del analito no debe tener interferencia de otros componentes ajenos⁷.

Procedimiento

Lo primero que se debe hacer es establecer las posibles sustancias interferentes (placebo, diluyentes, reactivos etc.) y adicionar cantidades conocidas de estas, solas o combinadas a la muestra y evaluar su respuesta al método, bajo las mismas condiciones del análisis⁷.

Criterios de aceptación

Al analizar los resultados la respuesta del método únicamente debe ser por el analito, sin que los excipientes, medio de disolución o diluyentes interfieran en ella, para que cumpla con esta prueba⁷. Toda interferencia no debe ser mayor al 3% de la respuesta del analito.

Robustez

Definición:

Es la capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación del método. Se evalúa la influencia de factores internos del método^{4,7}.

Procedimiento

Primero se tienen que establecer los factores instrumentales como: filtro , diluyente, celdas , etc. que se consideren críticos^{4,7}.

Una vez elegidos los factores a modificar, en cada condición establecida se analiza la muestra por lo menos por triplicado^{4,7}.

Reportar el % obtenido las muestras a condición normal de operación y para las muestras de las otras condiciones de operación. Calcular la media aritmética para la condición normal, y la media aritmética de cada condición establecida^{4, 7}.

Criterios de aceptación

La diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición respecto a la condición normal debe ser no mayor a 3%.^{4, 7}.

Tolerancia

Definición:

Se refiere a la reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones normales de operación como pueden ser equipos. Es decir se prueba la influencia de factores externos del método^{4, 7}.

Procedimiento

Se deben definir los factores externos ajenos al método como diferentes equipos, columnas etc., q se puedan presentar al reproducir el método en otras condiciones de uso, se analiza una misma muestra por lo menos por triplicado para cada condición, se reporta el contenido, potencia o valoración del analito en las muestras^{4, 7}.

Con los datos obtenidos calcular^{4, 7}:

- * La media aritmética (y),
- * Desviación estándar (S)

Criterios de aceptación

* Coeficiente de variación, debe ser no mayor a 3%.

Estabilidad Analítica de la muestra

Definición:

Es la propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y concentración de la sustancia de interés después de almacenarse durante un tiempo determinado por el analista bajo condiciones específicas^{4, 7}.

Procedimiento

Se determina por comparación de los resultados de los análisis iniciales de tres muestras con los obtenidos de las mismas muestras después de permanecer por un tiempo determinado en diferentes condiciones de almacenaje previamente establecidas.

Criterios de aceptación

El coeficiente de variación de los resultados no debe ser mayor a 3%^{4, 7}.

3.- DISCUSIÓN

La solubilidad de los medicamentos es una propiedad importante, ya que conociendo ésta información, se pueden establecer las condiciones óptimas para realizar los diferentes tipos de estudios de disolución y así poder asegurar la calidad de un producto y la uniformidad de los diferentes lotes de fabricación, igualmente podemos asegurar la bioequivalencia entre medicamentos genéricos.

El estudio de perfiles de disolución también proporciona los datos necesarios para establecer el tiempo de dosificación de los diferentes fármacos, asegurando que el medicamento se va a absorber de manera correcta y en el tiempo establecido y bioequivalencia.

Es importante evaluar la disolución de medicamentos en sus diferentes formas farmacéuticas sólidas, ya que de no evaluarse cada una de ellas podría representar un riesgo de salud para los consumidores, desde leve hasta grave. Algunos problemas que se pueden presentar son:

- Falta de actividad terapéutica
- Intoxicación por un exceso de fármaco libre en el torrente sanguíneo aun no absorbido.
- Muerte

Como se mencionó existe información en la que se indica cómo deben llevarse a cabo los estudios de disolución es decir las condiciones a las que debe someterse el medicamento.

Los estudios de perfiles de disolución se realizan cuando el medicamento es nuevo para conocer cómo se comporta, cuando se realiza algún cambio en el proceso de fabricación, acondicionamiento, etc., para ver si estos cambios afectan la estabilidad del medicamento y su solubilidad.

Los métodos empleados para estudios de disolución de los medicamentos son diversos, se conocen como métodos analíticos para disolución, dentro de estos el más usado en los laboratorios actualmente es el método de canastillas y el método de paletas y complementados con la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), ya que con esta técnica pueden separarse y cuantificarse los componentes en una matriz, además de tener una gran sensibilidad lo que permite cuantificar concentraciones muy pequeñas del analito de interés.

Estos métodos son de gran importancia ya que evidencia el comportamiento de los medicamentos en las diferentes condiciones a las que se someten.

Los métodos analíticos para estudios de perfiles de disolución deben estar validados, ya que esto asegura con evidencia documental que los datos que

se obtienen al emplearlo se comportan de manera consistente lo cual demuestra que son confiables y seguros.

En la actualidad no existe una norma que establezca específicamente los criterios para la validación, solo existen guías nacionales e internacionales en las cuales la mayoría de los laboratorios se basan para realizar la validación, la manera de llevarse a cabo la evaluación de los parámetros de una validación, así como los criterios de aceptación dependen de la guía en que se base y del mismo laboratorio, pero cualquier procedimiento o criterio que no esté especificado en algún documento debe justificarse.

Al comenzar el análisis de cada parámetro en la validación se debe evaluar la adecuabilidad del sistema, en la cual por lo regular se realiza el análisis de los estándares ocupados para la cuantificación, evaluándose los coeficientes de variación, en el caso de (CLAR) se determinan: Factor de coeio, factor de capacidad, platos teóricos, resolución. Estos parámetros aseguran que el sistema se encuentra en condiciones correctas para trabajar.

4.- CONCLUSIÓN

Se cumplió con los objetivos ya que ahora conocemos la importancia que tienen los estudios de perfiles de disolución de los medicamentos así como los métodos analíticos empleados en dichos estudios y sus parámetros de validación. Por lo tanto ahora sabemos que los estudios de disolución con métodos analíticos validados aseguran la calidad de los resultados de y así garantizan la efectividad de un fármaco.

5. - BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Shah VP, 1989. In vitro dissolution profile of water insoluble drug dosage forms in the presence of surfactants. *Pharmaceutical Research* 6:612-618.
- 2.- FDA, Guidance for industry. Dissolution testing for IR solid oral dosage forms. August 1997. *Diccionario de Real Academia*, ed., 2001.
- 3.- Meyer, M.C. Straughn, E.J. Jarvi, G.C. Wood, 1992 "The Bioequivalence of carbamazepine tablets with a history of clinical failures". *Pharmaceutical research* 9:1612-1616
- 4.- Guía de validación de métodos analíticos, Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos (CNQFB), ed., 2002.
- 5.- Shah, V.P. et al, 1989, Perfil de disolución invitro de formas de dosificación de fármacos insolubles en agua en presencia de surfactantes. *Pharmaceutical Research* 6:612-618.
- 6.- ICH [Q2A], Text on validation of analytical procedures, 1995.
- 7.- Manual Desarrollo y Validación de métodos analíticos, Agilent technologies. Centro Educacional Analítica S.C.
- 8.- FDA, Guidance for industry. Dissolution testing for IR solid oral dosage forms. August 1997.
- 9.- NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.
- 10.- Rácz I., 1989, Drug formulation, John Wiley and sons, New York. pp. 35-60.

11.- The Pharmacopeia of the United States of America. 31 Edition. Rockville: USP; 2008.

12.- Voight R., Bornschein M., 1987 Tratado de Tecnología Farmacéutica, tomo II, España. Editorial, Acribia. 45-116.

13.- Métodos modernos de análisis químicos, por, Robert L. Pecsok y L. Donal Shields, Editorial limusa.6: 87-145.