



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

REVISIÓN DE LA TRANSFERENCIA ANALÍTICA DE LAS METODOLOGÍAS PARA LAS PRUEBAS DEL PROMEDIO DE DOSIS LIBERADA, LA UNIFORMIDAD DE DOSIS LIBERADA Y LA CANTIDAD DE PARTÍCULAS FINAS MENORES A 5 MICRAS PARA SALMETEROL Y FLUTICASONA PROPIONATO, POLVO INHALABLE.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

GÓMEZ LOZADA BELÉN.



CIUDAD UNIVERSITARIA. CD. MX, 2022



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: Profesor: Maya Ruiz Georgina Margarita.

VOCAL: Profesor: Alpizar Ramos María del Socorro.

SECRETARIO: Profesor: Rodríguez Juan Manuel.

1er. SUPLENTE: Profesor: Amador Gonzales Enrique.

2° SUPLENTE: Profesor: Majluf Trejo Andrea Saori.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

SANDOZ, LA CANDELARIA. DIRECCIÓN: CANDELARIA NÚMERO 186, COLONIA ATLÁNTIDA, C.P. 04040, CIUDAD DE MÉXICO.

ASESOR DEL TEMA:

QFB. GEORGINA M. MAYA RUIZ.

SUSTENTANTE:

BELÉN GÓMEZ LOZADA.

Índice

| | Página |
|---|---------------|
| 1. Introducción..... | 5 |
| | |
| 2. Objetivos | |
| 2.1 Objetivo general..... | 6 |
| 2.2 Objetivos particulares..... | 6 |
| | |
| 3. Marco teórico | |
| 3.1 ¿Qué es el asma?..... | 8 |
| 3.2 Aparato respiratorio..... | 10 |
| 3.3 Tratamiento médico del asma..... | 14 |
| 3.4 Mecanismos de deposición de fármacos para tratamiento del asma... | 16 |
| 3.5 Dispositivos para la administración de fármacos inhalados..... | 21 |
| 3.6 Transferencia de metodología analítica | |
| 3.6.1 Protocolo..... | 24 |
| 3.6.2 Método analítico..... | 24 |
| 3.6.3 Transferencia analítica..... | 25 |
| 3.6.4 Validación..... | 27 |
| 3.7 Monografía de los principios activos | |
| 3.7.1 Salmeterol xinafoato..... | 30 |

| | |
|-----------------------------------|----|
| 3.7.2 Fluticasona propionato..... | 31 |
|-----------------------------------|----|

4. Desarrollo experimental

| | |
|---|----|
| 4.1 Diseño del protocolo..... | 32 |
| 4.1.1 Objetivo..... | 32 |
| 4.1.2 Alcance..... | 32 |
| 4.1.3 Responsabilidades del sitio de transferencia..... | 32 |
| 4.1.4 Responsabilidades de sitio receptor..... | 33 |
| 4.1.5 Estándares y reactivos empleados..... | 33 |
| 4.1.6 Equipos, aparatos e instrumentos | |
| Cromatografo de líquidos de alta resolución..... | 34 |
| Sistema de extracción para productos inhalables..... | 34 |
| Flujometro..... | 35 |
| Tubos DUSA..... | 36 |
| Impactador NGI-E..... | 37 |
| 4.1.7 Diseño experimental..... | 42 |
| 4.1.8 Método analítico | |
| Preparación de soluciones..... | 45 |
| Ajuste del sistema de extracción..... | 47 |
| Preparación de filtros..... | 51 |
| Extracción de muestra para promedio y uniformidad de | |

| | |
|---|-----------|
| dosis liberada..... | 51 |
| Extracción de muestra para cantidad de partículas finas menores a 5 micras..... | 56 |
| Condiciones cromatográficas..... | 63 |
| 4.1.9 Cálculos para la determinación de dosis liberada..... | 66 |
| 4.1.10 Cálculos para determinar la cantidad de partículas finas menores a 5 micras..... | 68 |
| 4.1.11 Criterios de aceptación..... | 70 |
| 4.2 Entrenamiento en el sitio de transferencia..... | 73 |
| 4.3 Resultados obtenidos durante la transferencia por el sitio de recepción | |
| 4.3.1 Cromatogramas y parámetros de adecuabilidad..... | 77 |
| 4.3.2 Promedio de dosis liberada..... | 82 |
| 4.3.3 Uniformidad de dosis liberada..... | 84 |
| 4.3.4 Cantidad de partículas finas menores a 5 micras..... | 87 |

5. Análisis y discusión de resultados

| | |
|---|----|
| 5.1 Adecuabilidad del sistema..... | 92 |
| 5.2 Promedio de dosis liberada..... | 93 |
| 5.3 Uniformidad de dosis liberada..... | 93 |
| 5.4 Cantidad de partículas finas menores a 5 micras..... | 94 |
| 5.5 Transferencia del método analítico..... | 94 |
| 5.6 Discusión de resultados..... | 96 |

| | |
|-----------------------------|------------|
| 6. Conclusiones..... | 98 |
| 7. Bibliografía..... | 100 |
| 8. Glosario..... | 102 |
| 9. Acrónimos..... | 105 |

1. Introducción.

La efectividad de los medicamentos para el tratamiento del asma, no sólo radica en el mecanismo de acción de los principios activos, sino también en la concentración del principio activo que llega al sitio de acción para ejercer su efecto y en el uso adecuado del dispositivo en el cual se encuentra dosificado el medicamento⁵.

Para lograr que el principio activo ejerza el mecanismo de acción, primero se tiene que lograr que el principio activo se encuentre en el órgano diana donde podrá ser absorbido, por lo cual, este trabajo se centra principalmente en la determinación del promedio de dosis liberada, la uniformidad de dosis liberada y la determinación de la cantidad de partículas menores a 5 micras de dos principios activos: salmeterol xinafoato y fluticasona propionato desde un inhalador de polvo seco.

En el presente trabajo se realiza la revisión de la transferencia de metodologías analíticas para la determinación de las pruebas del promedio de dosis liberada, uniformidad de dosis liberada y cantidad de partículas menores a 5 micras para dos principios activos que son utilizados en el tratamiento del asma: salmeterol xinafoato y fluticasona propionato. Estos dos principios activos se encuentran en una formulación contenida en una cavidad de aluminio de dosis fija en un inhalador de polvo seco en tres diferentes presentaciones: 50µg/100µg, 50µg/250µg y 50µg/500µg, (µg de salmeterol/µg de fluticasona propionato por dosis).

2. Objetivos.

2.1 Objetivo general:

Revisión de los requisitos generales para la transferencia de metodologías analíticas, desde un sitio de transferencia a un sitio receptor usando como estándar la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica USP 36 capítulo 1224: Transferencia de procedimientos analíticos.

2.2 Objetivos particulares:

1. Capacitación de un químico analista en el uso de los aparatos usados para la extracción de muestra para la determinación de promedio de dosis liberada, uniformidad de dosis liberada y cantidad de partículas finas menores a 5 micras en un producto inhalable de polvo seco de dosis fija que contiene dos principios activos: salmeterol y fluticasona propionato.
2. Revisión de la técnica analítica para la extracción de la muestra para la determinación del promedio de dosis liberada y uniformidad de dosis liberada de un inhalador de dosis fija que contiene una formulación en unidades de dosificación previamente medida, determinando mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución el contenido de ingredientes activos emitidos desde el inhalador.
3. Revisión de la técnica analítica para la extracción de la muestra para la determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras de un inhalador de dosis fija que contiene una formulación en unidades de dosificación previamente medida, determinando mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución el contenido de ingredientes activos emitidos desde el inhalador por dosis.

4. Determinación de la cantidad de los principios activos salmeterol y fluticasona propionato en las muestras extraídas de un inhalador de dosis fija que contiene una formulación en unidades de dosificación previamente medida, determinando mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución el contenido de ingredientes activos emitidos desde el inhalador.
5. Determinación del promedio de dosis liberada y de la uniformidad de dosis liberada para los activos salmeterol y fluticasona propionato que se encuentran en un inhalador de dosis fija que contiene una formulación en unidades de dosificación previamente medida
6. Determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para los activos salmeterol y fluticasona propionato que se encuentran en un inhalador de dosis fija que contiene una formulación en unidades de dosificación previamente medida.

3. Marco teórico.

3.1 ¿Qué es el asma?

El asma es una enfermedad crónica de las vías aéreas, cuya característica principal reside en la aparición de una respuesta inflamatoria exagerada ante estímulos específicos o inespecíficos. Ante exposiciones repetidas estos agentes acaban desencadenando la inflamación y la incrementan de tal manera que se perpetúa y empeora en el tiempo, alterando secundariamente la fisiología de la respuesta bronquial.²

Desde el punto de vista clínico, el asma se manifiesta por síntomas respiratorios (tos, sibilancias, disnea, tirantez torácica) diarios que alteran la calidad de vida del paciente y que además, pueden exacerbarse en crisis de agudización y comprometer gravemente la vida del paciente².

Los adultos con asma pueden presentar una amplia gama de estos síntomas con diferentes niveles de gravedad, a veces los síntomas pueden empeorar durante horas o minutos lo que lleva a una restricción severa de las vías respiratorias conocido como un ataque de asma; esto generalmente sólo se alivia con la medicación extra o en casos graves, la hospitalización².

El riesgo de desarrollar asma está vinculado a factores genéticos, es decir, los genes que una persona hereda de sus padres y factores ambientales, como la exposición a alérgenos o contaminantes, por ejemplo, cuando estos factores interactúan una persona que es genéticamente susceptible si vive en un área altamente contaminada, aumenta el riesgo aún más de padecer crisis de asma.⁶

En función de los factores que los desencadenan existen diferentes tipos de asma⁶:

- a.** Alérgica
- b.** Estacional
- c.** No alérgica
- d.** Ocupacional

- e. Inducida por ejercicio
- f. Nocturna

- a. **Alérgica:** aparece en relación con la exposición a sustancias alérgicas o neuroalérgicas como: el polen, ácaros del polvo, o pelo de animales como perros y gatos⁶.
- b. **Estacional:** su aparición está relacionada con el polen de las plantas, empeora en primavera y finales de verano⁶.
- c. **No alérgica:** las crisis se desencadenan por sustancias irritantes, como el humo del tabaco, infecciones respiratorias o cambios repentinos de temperatura o el reflujo gastroesofágico⁶.
- d. **Ocupacional:** las crisis se desencadenan por la exposición a sustancias químicas del lugar de trabajo, como madera, metales, compuestos orgánicos y resinas plásticas⁶.
- e. **Inducida por el ejercicio:** desencadenada por el ejercicio o la actividad física. Los síntomas se presentan por pacientes cuando realizan ejercicio o poco tiempo después de finalizar la actividad física⁶.
- f. **Nocturna:** se puede presentar en pacientes con cualquier tipo de asma. Los síntomas empeoran especialmente en la madrugada⁶.

No hay cura para la mayoría de los tipos de asma de adultos, por lo tanto, la meta principal es administrar principios activos que controlen la condición, esto incluye lograr mantener el control de los síntomas y prevenir cualquier empeoramiento de los mismos y los ataques de asma.⁶

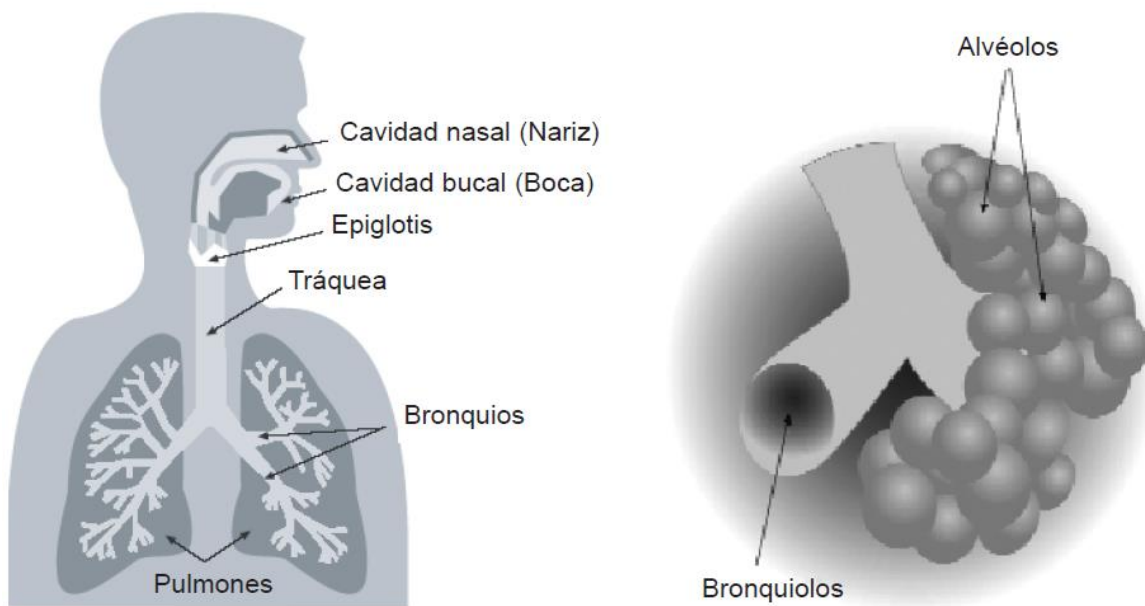
3.2 Aparato respiratorio

El aparato respiratorio o sistema respiratorio, que se muestra en la figura 1, es el encargado de captar el oxígeno (O_2) del aire e introducirlo en la sangre y expulsar del cuerpo el dióxido de carbono (CO_2)⁷.

Anatómicamente está conformado por:

- a. **Vías aéreas superiores:** fosas nasales, boca, faringe y laringe.
- b. **Vías aéreas inferiores:** tráquea, bronquios y bronquiolos.

Figura 1. Anatomía de los pulmones.



Fuente: Idod. (2013).

Los pulmones se albergan en el tórax, uno en el lado derecho y otro en el izquierdo. Cada pulmón está constituido por varias partes, llamadas lóbulos. El pulmón es blando y está protegido por la caja torácica, formada por las costillas. La función de los pulmones es proporcionar oxígeno al organismo y eliminar el dióxido de carbono. El oxígeno es un gas que nos aporta energía, mientras que el dióxido de carbono es un producto de desecho del organismo.⁷

El aire necesario para proporcionar oxígeno al organismo es inspirado a través de la nariz, la boca o ambos. La nariz es el camino preferente porque el aire se filtra en su interior con mayor eficacia que a través de la boca, lo que reduce la cantidad de sustancias irritantes que llegan a los pulmones y además, permite calentarlo y humedecerlo. La nariz no permite introducir grandes volúmenes de aire en los pulmones y en aquellas situaciones en las que necesitamos un gran aporte de oxígeno comenzamos a respirar por la boca.⁷

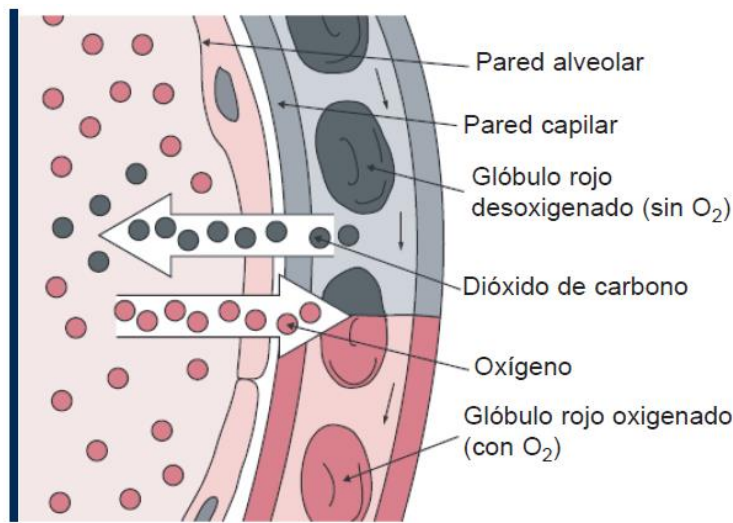
Después de entrar por la nariz o la boca, el aire desciende por la tráquea, un conducto que se encuentra en el cuello, delante del esófago. El camino que deben tomar el aire y los alimentos es controlado por la epiglotis, un músculo que impide el paso de los alimentos hacia la tráquea.⁷

La tráquea se divide en dos conductos respiratorios llamados bronquios. Estos conductos respiratorios dividen a su vez en conductos más pequeños llamados bronquiolos y estos terminan a su vez en diminutos sacos de aire llamados alvéolos.⁷

Los alvéolos se asemejan a pequeños racimos de uvas unidos a los diminutos conductos respiratorios. En los pulmones normales existen alrededor de 300 millones de alvéolos. No todos los alvéolos funcionan al mismo tiempo, de modo que el pulmón tiene grandes reservas en caso de lesiones producidas por una enfermedad, infección o intervención quirúrgica.⁷

Los alvéolos están rodeados por vasos sanguíneos diminutos, llamados capilares que envuelven al alvéolo formando una red. Es aquí donde el oxígeno penetra en la sangre. El dióxido de carbono desechado por el organismo se intercambia por el oxígeno, abandona la sangre y entra en los alvéolos para ser finalmente expulsado de los pulmones. El correcto funcionamiento del organismo requiere que el oxígeno penetre en la sangre y que el dióxido de carbono abandone la sangre a un ritmo regular como se muestra en la figura 2.⁷

Figura 2. Intercambio gaseoso en los pulmones.



Fuente: Idod. (2013).

El pulmón también contiene vasos sanguíneos y está recubierto por fibras nerviosas⁷.

Fuera del pulmón, existen dos capas delgadas llamadas pleuras. Una de ellas envuelve el propio pulmón y la otra recubre el interior de la cámara torácica, próxima a las costillas.⁷

El pulmón posee dos redes de vasos sanguíneos. Los vasos sanguíneos pueden ser arterias o venas. Una de las redes conduce la sangre hacia los pulmones y aporta los nutrientes que requieren, mientras la otra es la responsable de transportar el oxígeno al resto del cuerpo a través del corazón.⁷

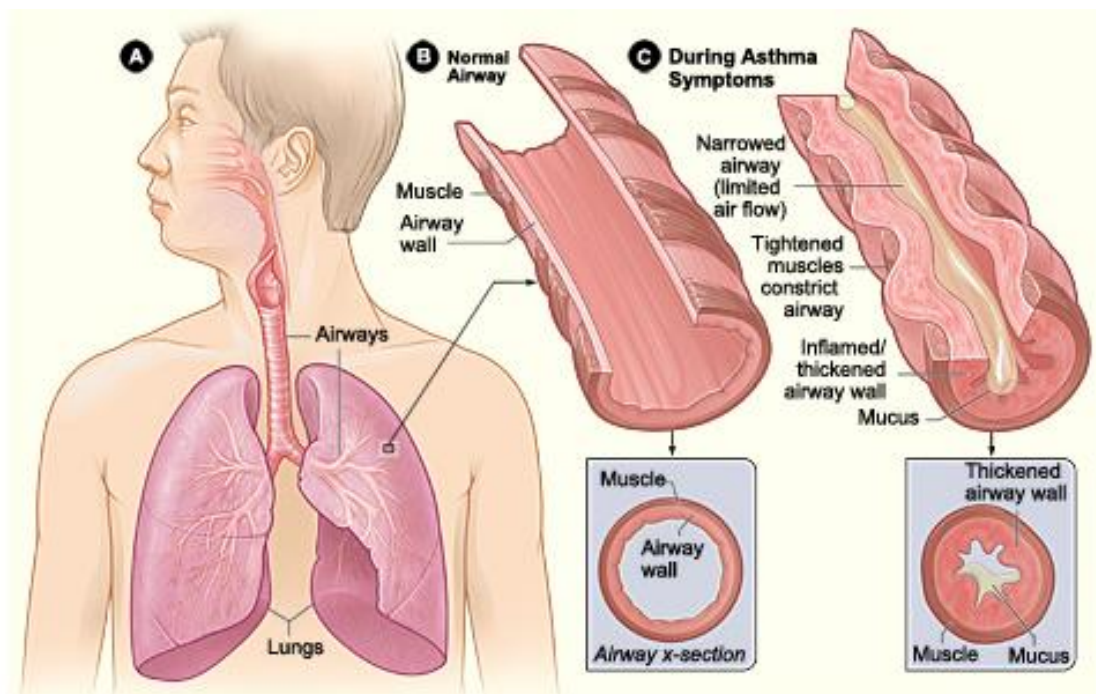
La sangre que ha recogido el oxígeno de los pulmones, llamada sangre arterial, regresa al lado izquierdo del corazón donde es bombeada hacia el resto del organismo para suministrar el oxígeno. Después de que el oxígeno se haya distribuido a las células del organismo, la llamada sangre venosa, retorna al lado derecho del corazón. Para desprenderse del dióxido de carbono y captar oxígeno⁷.

En la figura 3 se observa la anatomía del pulmón con asma y se muestra la ubicación de los pulmones y vías respiratorias en el cuerpo, la sección transversal

de una vía aérea normal y la sección transversal de una vía aérea durante los síntomas del asma.⁸

Cuando las vías respiratorias reaccionan, los músculos a su alrededor se tensan. Esto estrecha las vías respiratorias, causando que fluya menos aire hacia los pulmones. La inflamación también puede empeorar, haciendo las vías respiratorias aún más estrechas. Las células de las vías respiratorias pueden producir más mucosidad de lo habitual lo que puede ocasionar que se estrechen aún más las vías respiratorias.⁸

Figura 3. Anatomía del pulmón con asma.



Fuente: Kaft, M. (2017)

3.3 Tratamiento médico del asma

Existen diversos grupos de medicamentos indicados para el asma, los más usuales son los antiinflamatorios y los broncodilatadores, a continuación se enuncian los diferentes tipos de tratamientos.⁶

- a. Antiinflamatorios.
- b. Broncodilatadores.
- c. Inmunoterapia.
- d. Antihistamínicos.
- e. Antagonistas de los receptores de leucotrienos.

a. Antiinflamatorios: los más utilizados son los corticoides (beclometasona, budesonida, fluticasona) que disminuyen la inflamación de los bronquios. Existen formulaciones por vía inhalatoria o por vía oral o intravenosa en caso de agudizaciones más graves. Otros medicamentos antiinflamatorios son las cromonas que se utilizan por vía inhalada (cromoglicato y nedocromil sódico)⁶.

b. Broncodilatadores: Se utilizan agonistas beta 2 (salbutamol, terbutalina, salmeterol y formeterol), anticolinérgicos (bromuro de ipratropio) y metilxantinas, su función consiste en aumentar el diámetro del bronquio. Se administran de forma inhalada ya que así llega mayor cantidad de fármaco al pulmón, con menor efecto secundario para el organismo⁶.

c. Inmunoterapia: se emplea únicamente en los pacientes sensibles a un alérgeno, en los que no se ha conseguido una respuesta adecuada del asma, a pesar de seguir un tratamiento farmacológico y cumplir con medidas adecuadas para evitar el alérgeno. Se administra en el hospital por personal especializado, el más utilizado actualmente es el omalizumab⁶.

- d. Antihistamínicos:** estos fármacos no controlan el asma pero sí son útiles para disminuir los síntomas alérgicos como el picor en la nariz, estornudos y el enrojecimiento de ojos como la oximetazolina y la cloropiramina⁶.

- e. Antagonistas de los receptores de leucotrienos:** actúan también como antiinflamatorios de la vía respiratoria, inhibiendo la formación de leucotrienos. Son útiles en el asma debida al ejercicio y aquellos pacientes que están sensibilizados por la aspirina. Destacan el montelukast y zafirlukast⁶.

3.4 Mecanismos de deposición de fármacos para tratamientos del asma.

La medicación inhalada es una de las primeras líneas de tratamiento de enfermedades pulmonares obstructivas. La efectividad de los medicamentos usados para el asma, se encuentra en relación directa con la cantidad de fármaco que logre depositarse en la región más allá de la faringe¹.

Para lograr depositar un fármaco inhalable de forma adecuada, se tienen que considerar diferentes factores, que pueden agruparse en dos grandes áreas¹:

1. Los factores relacionados directamente con dispositivo que contiene el fármaco.
2. Los factores asociados con el paciente.

Factores asociados al dispositivo:

- a. **Tamaño y forma de las partículas**
- b. **Mecanismo de deposición en el pulmón.**
- c. **Grado de humedad.**

a. Tamaño y forma

El tamaño y la forma de las partículas son factores primordiales que van a condicionar su depósito en el pulmón. El tamaño se define mediante lo que se denomina diámetro de la masa media aerodinámica (DMMA) o diámetro de una partícula de masa igual a la mediana de las partículas de una población, es decir, aquel diámetro de la partícula en el que el 50% de la masa del aerosol se encuentra por encima del mismo y el otro 50% por debajo¹.

b. Mecanismo de deposición en el pulmón.

En función de su tamaño y de su forma, las partículas de los principios activos salmeterol xinafoato y fluticasona propionato se pueden depositar mediante cuatro mecanismos^{1,4}:

- 1. Choque**
- 2. Intercepción.**
- 3. Sedimentación.**
- 4. Suspensión.**

- **Choque.** Este fenómeno afecta sobre todo a las partículas mayores de 10 μm , que van a quedar retenidas principalmente en la región faríngea, en especial si el fármaco es administrado empleando inhaladores en polvo seco (IPS) o inhaladores en cartucho presurizado (ICP)^{1,4}.
- **Intercepción.** Se da principalmente en el caso de las fibras, en las que, debido a su forma alargada, el depósito se produce en cuanto contactan con la pared de la vía aérea^{1,4}.
- **Sedimentación.** Es el fenómeno físico por el que las partículas con una masa suficiente se depositan por acción de la gravedad cuando el tiempo de permanencia en la vía aérea es suficientemente largo. Predomina en las cinco últimas generaciones bronquiales^{1,4}.
- **Suspensión.** Es el fenómeno por el que las partículas de un aerosol se desplazan de forma errática de un sitio a otro de las vías aéreas. Sucede como consecuencia del movimiento browniano de las partículas y se da en aquellas de tamaño inferior a 0.5 μm de diámetro de la masa media aerodinámica cuando alcanzan los espacios alveolares, en donde la velocidad del aire es prácticamente nula^{1,4}.

Las partículas de los fármacos aerosolizados suelen poseer una forma uniforme, con simetría en varios planos, y raramente tienen un tamaño inferior a 1 μm , por lo que los mecanismos predominantes van a ser el choque y la sedimentación^{1,4}.

De modo general puede considerarse que las partículas con diámetro aerodinámico mayor de 10 μm se depositan en la faringe, las de 5-10 μm en las vías aéreas centrales y las de 0.5-5 μm en las pequeñas vías aéreas y alvéolos^{1,4}.

Por lo tanto, para el tratamiento respiratorio tópico interesa emplear partículas con diámetro de la masa media aerodinámica comprendido entre 0.5 y 5 μm . Es lo que se denomina fracción respirable de un aerosol^{1,4}.

c. Grado de humedad.

Las partículas de fármaco de los aerosoles pueden ser higroscópicas en mayor o menor medida. La higroscopicidad es la propiedad de algunas sustancias de absorber y exhalar la humedad según el medio en que se encuentran. Esto hace que puedan aumentar o disminuir de tamaño al penetrar en la vía aérea, con la consiguiente modificación del patrón de depósito respecto a lo esperado inicialmente^{1,4}.

El diámetro que alcanza una partícula después de su crecimiento higroscópico depende de su diámetro inicial, de las propiedades intrínsecas de la partícula y de las condiciones ambientales de las vías aéreas^{1,4}.

En general se considera que el crecimiento higroscópico afecta poco a las partículas con diámetro de la masa media aerodinámica inferior a 0.1 μm , mientras que es muy intenso en las partículas con diámetro de la masa media aerodinámica superior a 0.5 μm ^{1,4}.

La higroscopicidad de las moléculas puede ser empleada para intentar favorecer el depósito de fármacos inhalados. Se han desarrollado estudios en los que se administra un aerosol con diámetro de la masa media aerodinámica

submicrométrico o nanométrico para reducir las pérdidas extra torácicas, aprovechando su crecimiento posterior debido a la higroscopicidad para facilitar la retención dentro de los pulmones^{1,4}.

Factores relacionados con el paciente:

- a. Geometría de las vías aéreas.**
- b. Capacidad para generar flujo de aire adecuado.**
- c. Mecanismos de aclaramiento mucociliar.**

a. Geometría de las vías aéreas.

Las probabilidades de depósito de las partículas por choque aumentan cuanto mayor es el tamaño de las propias partículas, cuanto mayor sea el flujo de aire inspirado, cuanto mayor sea el ángulo de separación entre dos ramas y cuanto más estrecha sea la vía aérea^{1,4}.

En patologías como la bronquitis crónica o el asma, que pueden alterar la arquitectura del pulmón por aparición de broncoconstricción, inflamación o acumulación de secreciones, se modifica el depósito de los fármacos aerosolizados. La disminución del calibre de la vía aérea aumenta la velocidad del aire, produciendo turbulencia en lugares en los que el flujo es normalmente laminar. La obstrucción de la vía aérea también hace que el aire tienda a desplazarse a zonas sin obstruir, por lo que el fármaco inhalado también tenderá a depositarse mayoritariamente en las zonas sanas del pulmón^{1,4}.

b. Capacidad para generar flujo de aire adecuado.

Dado que las partículas son transportadas en la vía aérea por una corriente de aire, sus trayectorias se van a ver afectadas por las características de la misma. El flujo de aire en los pulmones está determinado por el volumen corriente y la frecuencia respiratoria.

Se ha demostrado que en las cuatro primeras generaciones de la vía aérea, para cualquier tamaño de partícula, el depósito aumenta según lo hace el flujo inspiratorio. Sin embargo, lo contrario sucede en las últimas generaciones de la vía aérea, en donde el depósito de partículas es inversamente proporcional a este flujo^{1,4}.

c. Mecanismos de aclaramiento mucociliar.

Una vez depositadas en las vías aéreas, las partículas pueden ser arrastradas por el sistema mucociliar, degradadas o absorbidas a la circulación sistémica o a los conductos linfáticos^{1,4}.

El primer mecanismo se da en las vías aéreas de conducción (desde la tráquea hasta los bronquiolos terminales), tapizadas por epitelio ciliado, el cual está cubierto por moco en el que se distinguen dos capas: una capa periciliar de baja viscosidad y una capa más espesa que cubre a esta. Esta capa bifásica de moco protege al epitelio de la deshidratación, ayuda a humidificar el aire y proporciona una barrera protectora al atrapar las partículas inhaladas^{1,4}.

Las partículas insolubles quedan atrapadas en el moco y se desplazan hacia la región faringolaríngea por el movimiento de los cilios del epitelio, donde van a ser expectoradas o deglutidas^{1,4}.

Las partículas solubles son eliminadas por mecanismos de absorción. Las moléculas liposolubles atraviesan el epitelio respiratorio por transporte pasivo; las moléculas hidrosolubles pueden atravesar la barrera epitelial a través de los espacios intercelulares o bien por transporte activo (por mecanismos de endocitosis y exocitosis). Una vez ubicadas en la región de la submucosa, las partículas pueden pasar a la circulación sistémica, a la circulación bronquial o al sistema linfático^{1,4}.

Las partículas que alcanzan a depositarse en los alvéolos pueden ser fagocitadas y eliminadas por los macrófagos alveolares, en el caso de que sean partículas insolubles o bien ser absorbidas hacia la circulación sistémica si son solubles^{1,4}.

3.5 Dispositivos para la administración de fármacos inhalados.

El tratamiento de las infecciones respiratorias mediante vahos se ha realizado desde tiempos inmemorables. En 1828, Schneider y Waltz desarrollaron un pulverizador cuya finalidad eran las duchas con aguas minerales, pero que fue utilizado también como inhalador. El primer inhalador portátil fue creado en 1856 por Sales-Giron, médico de balneario, y se trataba de un pulverizador de líquidos manual que permitía que los enfermos realizaran en su domicilio sesiones inhalatorias de infusiones balsámicas³.

El descubrimiento de la adrenalina en 1901 por Takamine y Aldrich, y su administración de forma inhalada por primera vez en 1929, abrieron la puerta a la búsqueda y administración de nuevos fármacos inhalados y al perfeccionamiento de los dispositivos para su administración³.

Los dispositivos empleados en la actualidad para la administración de fármacos inhalados pueden dividirse en tres tipos¹:

- a. Nebulizadores.**
- b. Inhaladores con cartucho presurizado.**
- c. Inhaladores de polvo seco.**

a. Nebulizadores

Los nebulizadores son básicamente de dos tipos, los jet y los ultrasónicos.

Los nebulizadores tipo jet se basan en el efecto Bernouilli, según el cual un gas comprimido que pasa a través de un orificio estrecho crea una zona de presión baja a la salida del mismo. Si en este punto de presión baja se une el extremo de un conducto que contiene una capa fina de líquido, la presión baja originada hará que este líquido sea aspirado formándose pequeñas gotas¹.

Los nebulizadores ultrasónicos emplean un cristal piezoeléctrico que vibra a una frecuencia elevada dentro de la cámara nebulizadora, transmitiendo la energía vibratoria al líquido en contacto con él y convirtiendo dicho líquido en aerosol¹.

Los nebulizadores en jet por lo general pueden aerosolizar la mayor parte de los principios activos de las soluciones y los ultrasónicos puede que no sean eficaces si se emplean soluciones o suspensiones viscosas¹.

Los nebulizadores permiten administrar dosis elevadas de fármacos en pacientes sin capacidad de coordinación o de cooperación y permiten la administración de varias sustancias mezcladas en una misma solución. El flujo inspiratorio mínimo necesario para que el aerosol producido por un nebulizador alcance los pulmones es de 6 a 8 L/min. Sin embargo, se producen elevadas pérdidas de fármaco al quedar retenida gran parte de la medicación en el nebulizador en forma de espacio muerto o al perderse en el aire del ambiente durante la aspiración¹.

b. Inhaladores con cartucho presurizado

Los inhaladores con cartucho presurizado (ICP) son dispositivos para la administración de fármacos aerosolizados que emiten una dosis fija de fármaco en cada pulsación. Disponen de una cámara metálica con una suspensión o solución del fármaco en un propelente en fase líquida que, a temperatura ambiente y a presión atmosférica, pasa a fase gaseosa. Una pieza clave en este sistema es la válvula dosificadora, pieza que permite liberar en cada pulsación una dosis controlada y reproducible del fármaco. El fármaco sale a una velocidad muy elevada, de más de 30 m/s, a través de una boquilla, y en forma de partículas con diámetro de la masa media aerodinámica comprendida entre 2 y 4 μm ¹.

c. Inhaladores de polvo

Los inhaladores de polvo (IPS) fueron desarrollados con el objetivo de eliminar las dificultades de coordinación propias de los inhaladores de cartucho presurizado. Permiten administrar dosis individuales de fármaco en forma de polvo contenido en cápsulas que deben pincharse antes de su administración (sistemas unidosis), o en

blísteres que se desplazan en el dispositivo y reservorios de polvo (sistemas multidosis)¹.

Las ventajas de los inhaladores de polvo seco son que no requieren de propelentes para su administración, lo que los hace más respetuosos con el medio ambiente y que muchos de ellos disponen de un indicador de dosis restantes¹.

Como principales inconvenientes cabe destacar que el paciente percibe en menor medida la introducción del fármaco en la vía aérea, lo cual puede perjudicar el cumplimiento del tratamiento y su precio en general es más elevado que el de los inhaladores de cartucho presurizado¹.

Deben conservarse en un ambiente seco, ya que la humedad favorece la formación de aglomerados de polvo que pueden obstruir el sistema de inhalación¹.

La dosis que llega al pulmón es similar a la de los inhaladores de cartucho presurizado, y menos del 20% de la dosis inicial alcanza a llegar a los pulmones¹.

La dispersión del polvo en partículas que entran en la fracción respirable se produce por la formación de flujos turbulentos de aire en el contenedor de polvo, rompiendo los aglomerados de polvo en partículas de menor tamaño y separando las partículas de transporte del fármaco. Las partículas generadas finalmente tienen un diámetro aerodinámico que oscila entre 1 y 2 μm ¹.

Cada inhalador de polvo seco tiene una resistencia al flujo aéreo distinta que determina el esfuerzo inspiratorio necesario para dispersar el polvo. Cuanto mayor sea la resistencia del dispositivo, más difícil va a ser generar el esfuerzo inspiratorio, pero mayor va a ser el depósito del fármaco en los pulmones¹.

3.6 Transferencia de metodología analítica.

3.6.1 Protocolo.

Un protocolo es un documento que permite la comunicación entre dos entidades, el cual ha sido destinado para contener información estandarizada sobre cualquier tipo de proceso. En este caso, se usa cuando el proceso tiene que ser efectuado por dos entidades diferentes y cada entidad requiere contar con un documento donde se redacten todos los asuntos concernientes al mismo, es decir, el protocolo contiene un conjunto de reglas y procedimientos que deben respetarse para realizar el proceso de forma correcta¹⁰.

En el protocolo se establecen los objetivos, procedimientos, materiales, métodos y criterios de aceptación que se utilizarán para realizar la comparación entre las dos entidades que lleven a cabo el proceso de transferencia analítica¹⁰.

En el protocolo de transferencia analítica, se definen las actividades y responsabilidades durante la transferencia del método. Además, se estipulan los lotes a ser analizados, los detalles experimentales y los criterios de aceptación relevantes de cada método analítico a ser transferido¹⁰.

Al finalizar la transferencia del método analítico, se emite un reporte donde se documentan los resultados obtenidos durante la transferencia que es sometido a un proceso de revisión y aprobación por parte del sitio de transferencia¹⁰.

3.6.2 Método analítico.

Consiste en un documento revisado y autorizado por expertos donde se redacta de manera clara y precisa las instrucciones de trabajo necesarias para realizar alguna actividad¹⁰.

En un laboratorio de medicamentos, un método analítico, es un documento donde se redacta de forma precisa todos los aspectos relacionados con el análisis de medicamentos, es decir, en este documento se escriben todos los materiales,

reactivos, estándares, condiciones para equipos e incluso las condiciones ambientales con las cuales debe de ser realizado el análisis¹⁰.

Además, el método analítico contiene los parámetros que deben de ser revisados a lo largo del análisis del medicamento, por ejemplo las especificaciones para el cumplimiento de parámetros de adecuabilidad de un sistema cromatográfico. Además debe contener una serie de fórmulas que permitan cuantificar de forma correcta cada analito¹⁰.

3.6.3 Transferencia analítica:

La transferencia de métodos de análisis es un requerimiento regulatorio cuyo objetivo es asegurar que los resultados obtenidos, para un mismo análisis y utilizando el mismo método validado, son consistentes entre diferentes laboratorios o compañías. Es por tanto un proceso documentado en el que se verifica que un método analítico validado se puede realizar en diferentes laboratorios¹¹.

El propósito de la transferencia analítica, es establecer un procedimiento normalizado de operación que indique los pasos a seguir para la adecuada transferencia de métodos analíticos. Esto es aplicable a todos aquellos productos que requieran una transferencia de método analítico desde un sitio de transferencia a un sitio receptor, donde el método debe estar validado por el sitio de transferencia¹¹.

Una transferencia de método es el proceso formal de transferir el conocimiento analítico del sitio de transferencia al sitio receptor, el cual debe mostrar su habilidad para hacer procedimientos analíticos confiables y precisos¹¹.

Mediante la transferencia del método analítico, se asegura que el sitio receptor tiene la capacidad para asegurar la calidad analítica de un lote de manera independiente¹¹.

Las transferencias de método se seleccionan en cuatro diferentes enfoques, dependiendo de las circunstancias¹⁰:

- a. **Análisis comparativo.**
- b. **Co-validación.**
- c. **Re validación.**
- d. **Extensión de transferencia**

- a. **Análisis comparativo**, que es el procedimiento más común llevado a cabo entre lotes homogéneos de material en cuestión. Consiste en un análisis simultáneo de los mismos lotes llevado a cabo en paralelo entre el sitio receptor y el sitio de transferencia y en la posterior comparación de resultados.
- b. **Co-validación** entre laboratorios, este se aplica para mostrar la precisión inter-laboratorios. Como ambos sitios, el sitio de transferencia y el sitio receptor, están involucrados en la validación analítica, se establece el método entre ambos sitios.
- c. **Re validación** del método según el sitio receptor, que podría reemplazar cualquier actividad de transferencia. Con la re validación el sitio receptor gana la habilidad y conocimiento necesario para realizar el método como se tiene previsto. Este enfoque es usualmente utilizado para análisis de muestras en control de proceso, donde la naturaleza de la muestra prohíbe el análisis comparativo o co validación.
- d. **Extensión de transferencia**, lo que es usualmente llamado renuncia de transferencia. Esto puede aplicar, por ejemplo, cuando el sitio receptor ya analizó el producto y es completamente familiar con los procedimientos, o cuando se adiciona una nueva concentración a un producto ya existente transferido con anterioridad.

3.6.4 Validación.

Es demostrar mediante evidencia documentada que un proceso cumple con el propósito con el cual fue realizado. Proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas¹⁰.

El objetivo de la validación de un método analítico es demostrar que el procedimiento es conveniente para el uso previsto. Comprende la colección planificada, sistemática y documentada de los datos para apoyar el procedimiento analítico. El grado de validación analítica realizada debe reflejar la naturaleza de la prueba y el uso del método¹⁰.

El laboratorio que realiza la transferencia del método analítico debe tener validadas las técnicas analíticas por lo que el sitio receptor recibe capacitación del tratamiento analítico de metodologías validadas previamente¹⁰.

Para los dos principios activos se desarrolló y validó para su cuantificación la técnica analítica de cromatografía de líquidos de alta resolución. Y en el caso específico del principio activo de salmeterol xinafoato, sólo se considera el pico que aparece en el cromatograma debido al salmeterol que es el que se cuantificó y validó¹⁰.

Parámetros de validación en cromatografía líquida de alta resolución¹⁰:

- a. Especificidad/Selectividad.**
- b. Linealidad del sistema y del método.**
- c. Rango de intervalo.**
- d. Exactitud.**
- e. Precisión.**
- f. Precisión intermedia.**
- g. Límite de detección y de cuantificación.**
- h. Robustez.**
- i. Estabilidad.**

a. Especificidad/Selectividad

Este parámetro consiste en demostrar que la metodología analítica es específica para un principio activo en particular. Para esto se evalúan todas las soluciones y principios activos empleados en el análisis mediante un detector de arreglo de diodos. Se obtiene un gráfico de absorción definido y sin ninguna interferencia para el caso de las soluciones donde se encuentran los principios activos.

b. Linealidad del sistema y del método

El propósito de la linealidad es demostrar que todo el sistema analítico genera una respuesta lineal, es decir, que cada respuesta es directamente proporcional a la concentración del analito, aún en presencia de los componentes de una formulación. Se obtiene un gráfico lineal de al menos 5 diferentes concentraciones en donde el valor de $r \geq 0.98$.

c. Rango o intervalo

Este parámetro se puede evaluar junto con la linealidad del sistema y del método. El rango se establece al confirmar que el procedimiento analítico proporciona un grado aceptable de linealidad, exactitud y precisión cuando se aplica a muestras que contienen cantidades del activo dentro y en los extremos del rango especificado en la linealidad del método.

d. Exactitud

Puede determinarse simultáneamente cuando se adquieren datos de especificidad, linealidad y precisión. Se puede determinar usando una solución de referencia que es agregada a un placebo. Puede calcularse el % de recobro y comparar la cantidad recuperada contra la cantidad adicionada.

e. Precisión.

La precisión es dividida en repetibilidad y precisión intermedia.

f. Precisión intermedia.

Consiste en establecer que efectos tienen los eventos aleatorios en la metodología analítica. Se puede obtener realizando la repetición de la linealidad en dos días diferentes por dos químicos analistas diferentes incluso utilizando dos cromatógrafos diferentes.

g. Límite de detección y límite de cuantificación.

Estos límites se aplican solo para la determinación de impurezas y se encuentran ligados al nivel en el que una impureza debe de ser cuantificada. Estos límites se determinan en presencia de los diferentes excipientes de una formulación.

h. Robustez.

La robustez se evalúa durante el desarrollo del método analítico. Se evalúa realizando la metodología analítica con una serie de variaciones utilizando un apropiado diseño experimental. Además se tiene que demostrar que al realizar estas variaciones en un rango determinado, el método no es sensible. Se pueden incluir cromatogramas típicos en el reporte de validación.

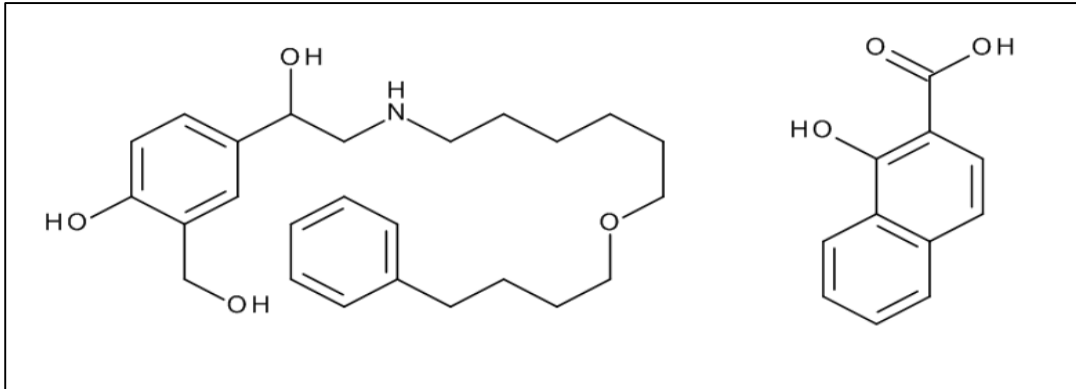
i. Estabilidad.

Se realiza comparando las soluciones de muestra y de referencia almacenadas dentro de un tiempo y condiciones establecidas con soluciones muestra y de referencia preparadas recientemente. No debe de mostrarse un cambio significativo en la cuantificación de los principios activos, en el caso de impurezas, ninguna impureza nueva debe aparecer.

3.7 Monografía de los principios activos

3.7.1 Salmeterol Xinafoato

Estructura

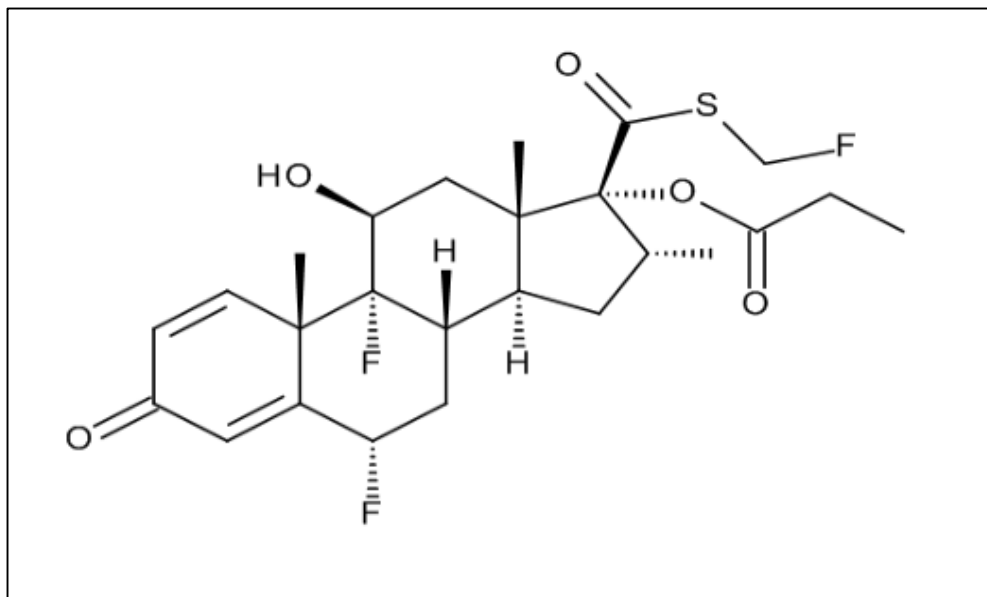


| | |
|----------------------------------|--|
| Nombre | ((±)-4-Hidroxi-α1-[[[6-(4-fenilbutoxi)hexil]amino]metil]-m-xileno-α, α'-diol 1-hidroxi-2-naftoato) |
| Número CAS | 94749-08-3 |
| Fórmula | C ₂₅ H ₃₇ NO ₄ • C ₁₁ H ₈ O ₃ |
| Peso molecular | 603.75 g/mol |
| Mecanismo de acción | Agonista selectivo de acción prolongada de los receptores β ₂ -adrenérgicos. Inhibe la liberación en pulmón de mediadores procedentes de mastocitos, inhibe así la respuesta al alérgeno inhalado y atenúa la hiperreactividad bronquial. |
| Indicaciones terapéuticas | Tratamiento regular a largo plazo de la obstrucción reversible de vías respiratorias por asma y bronquitis crónica (EPOC). Asma: pacientes tratados con corticoides que requieran además un agonista-β de larga duración. |

Fuente: Certificado de uso de estándares primarios E.P.

3.7.2 Fluticasona propionato

Estructura



| | |
|----------------------------------|--|
| Nombre | S-(fluorometil) (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17R)- 6,9-difluoro-11,17-dihidroxi-10,13,16-trimetil-3-oxo- 6,7,8,11,12,14,15,16-octahidrociclopenta[a] fenantreno-17-carbotioato |
| Número CAS | 80474-14-2 |
| Fórmula | C ₂₅ H ₃₁ F ₃ O ₅ S |
| Peso molecular | 500.57 g/mol |
| Mecanismo de acción | Antiinflamatorio glucocorticoideo potente en interior de los pulmones. Reduce síntomas del asma y EPOC, y exacerbaciones del asma; mejora la función pulmonar. |
| Indicaciones terapéuticas | Tratamiento profiláctico del asma inicial, asma leve, asma moderado y asma grave Tratamiento sintomático de EPOC. |

Fuente: Certificado de uso de estándares primarios E.P.

4. Desarrollo experimental.

4.1 Diseño del protocolo: El protocolo se realiza con la finalidad de establecer una estrategia de ejecución de la transferencia, en el protocolo se incluyen los requisitos para la ejecución y responsabilidades del sitio receptor y del sitio de transferencia. La transferencia de los métodos analíticos se realizará mediante un análisis comparativo de los resultados obtenidos entre el sitio receptor y el sitio de transferencia de tres lotes previamente definidos.

4.1.1 Objetivo: Establecer las responsabilidades de los dos sitios involucrados en la transferencia de metodología analítica para la determinación de promedio de dosis liberada, uniformidad de dosis liberada y cantidad de partículas finas menores a 5 micras en un producto inhalable de polvo seco de dosis fija que contiene dos principios activos: salmeterol y fluticasona propionato, así mismo, definir los lotes involucrados para la transferencia, los instrumentos y materiales usados, el método analítico y los criterio de aceptación.

4.1.2 Alcance: Tres lotes de producto inhalable de polvo seco de dosis fija que contiene dos principios activos: salmeterol y fluticasona propionato en tres diferentes presentaciones:

- Producto inhalable Salmeterol / Fluticasona propionato dosis 50µg/100µg
- Producto inhalable Salmeterol / Fluticasona propionato dosis 50µg/250µg
- Producto inhalable Salmeterol / Fluticasona propionato dosis 50µg/500µg

4.1.3 Responsabilidades del sitio de transferencia:

- Realizar y aprobar el protocolo.
- Entrenar al químico analista del sitio receptor que ejecutará los métodos analíticos.
- Proporcionar muestras suficientes destinadas para la realización de la transferencia.
- Retroalimentar al sitio receptor en caso de ser necesario.

- Revisar el reporte final de la transferencia de los métodos analíticos.
- Si los resultados obtenidos son satisfactorios, aprobar la transferencia analítica.

4.1.4 Responsabilidades del sitio receptor:

- Revisar y aprobar el protocolo.
- Enviar al químico analista al sitio de transferencia para recibir el entrenamiento necesario para la ejecución de los métodos analíticos.
- Resguardar muestras y estándares entregadas por el sitio receptor durante el desarrollo de la transferencia hasta la aprobación del reporte de la transferencia.
- Adquirir los equipos, aparatos, instrumentos, columna y reactivos necesarios para la ejecución de los métodos analíticos.
- Ejecutar las metodologías analíticas por el químico analista entrenado para la determinación de promedio de dosis liberada, uniformidad de dosis liberada y cantidad de partículas finas menores a 5 micras, haciendo uso de la metodología proporcionada por el sitio de transferencia y de los conocimientos adquiridos durante el entrenamiento.
- Solicitar apoyo al sitio ante cualquier duda y/o incumplimiento durante la transferencia.
- Realizar el reporte de la transferencia de la metodología analítica una vez concluidos los tres lotes.
- Enviar el reporte de la transferencia de la metodología al sitio receptor para poder ser evaluado.
- Esperar respuesta del sitio.

4.1.5 Estándares y reactivos empleados:

- Salmeterol xinafoato, sustancia de Referencia primaria marca E.P.
- Fluticasona propionato, sustancia de Referencia primaria marca E.P.

- Acetonitrilo, grado HPLC.
- Agua purificada.
- Ácido trifluoroacético (pureza > 99.7 %).
- Metanol, grado HPLC.
- Etanol, grado HPLC.
- Sigmacote® (reactivo comercial de silicona en solución).
- Brij (reactivo de silicona).

4.1.6 Equipos, aparatos e instrumentos:

- a. **Cromatógrafo de líquidos de alta resolución para fase reversa con detector UV que permite las siguientes condiciones de uso:**

Tabla 1. Condiciones cromatográficas

| Parámetros | Condiciones |
|---------------------------------|--------------------------------------|
| Columna | ACT ACE3 C18, 100 x 4.6 mm 3µm 300 Å |
| Longitud de onda | 225 nm |
| Velocidad de flujo | 1.5 mL/min |
| Volumen de inyección | 25 µL |
| Temperatura de columna | 30°C |
| Temperatura del automuestreador | 5°C |

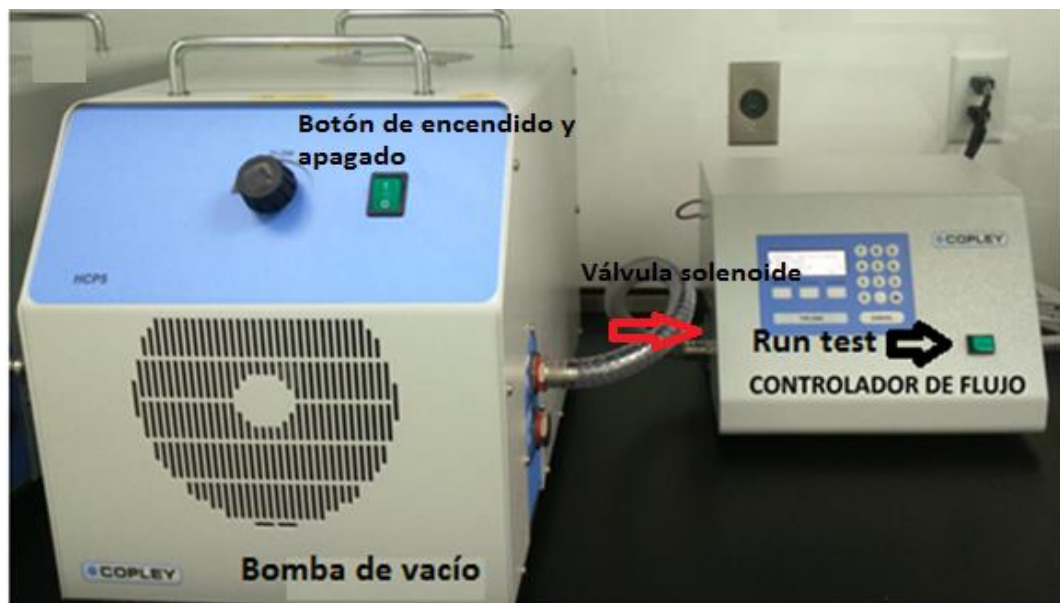
Fuente: Método analítica sitio de transferencia

- b. **Sistema de extracción para productos inhalables de polvo seco.**

En la figura 4 se muestra el sistema de extracción necesario para el uso de los aparatos DUSA y NGI. El equipo debe estar adaptado a una bomba de vacío con la capacidad para extraer una cantidad mayor de aire a la requerida, a la velocidad de flujo especificada, a través del aparato de

muestreo y del inhalador simultáneamente. Una válvula de dos vías, operada mediante solenoides, de baja resistencia y controlada por un temporizador debe estar interpuesta entre la bomba de vacío y la válvula de control de flujo para controlar la duración y la velocidad del flujo. La válvula de control de flujo debe permitir que se extraigan 4 (± 0.2) litros de aire desde la boquilla del inhalador a la velocidad de flujo especificada.

Figura 4. Sistema de extracción para los aparatos de muestreo de unidades de dosificación e impactador NGI-E.



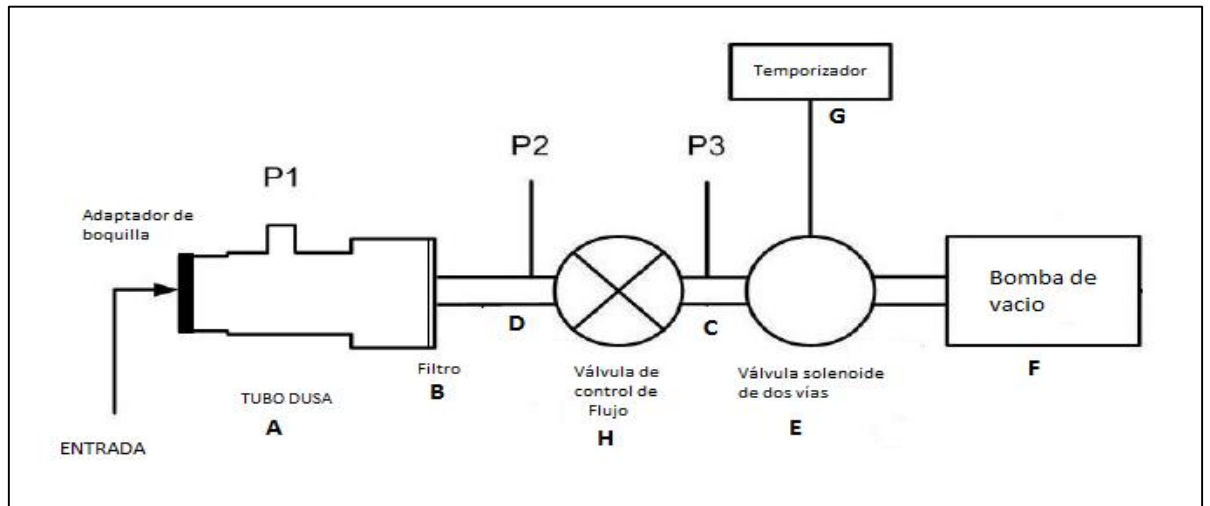
Fuente: Laboratorio de Control de Calidad.

c. Flujómetro.

El flujómetro empleado, debe contar con un intervalo de uso de 10-100 litros por minuto. Debe tener un adaptador que le permita usarse simultáneamente con el sistema de extracción indicado.

d. Tubos para determinación de uniformidad de dosis liberada

Figura 5. Esquema del sistema de extracción adaptado al tubo DUSA¹⁰.



Fuente: USP, 2013

En la figura 5 se muestra el esquema del tubo de muestreo DUSA adaptado al sistema de extracción para el muestreo de los activos para la determinación del promedio de dosis liberada y la uniformidad de dosis liberada.

El equipo DUSA debe contar con un adaptador de filtro y un tubo de recolección con un diámetro interno que permite colocar discos de filtro de 47 mm de diámetro sobre una malla abierta de acero inoxidable, lo que permite usar el equipo a diferentes velocidades de flujo. Además, se debe de contar con dos tipos de tubos, uno para la recolección de las muestras que consiste en un tubo que puede ser tapado en ambos extremos y otro para determinar la presión diferencial del equipo, ambos con juntas de silicón que aseguran el sellado como lo muestra la figura 6.

Figura 6. Tubos usados en la prueba del promedio y de la uniformidad de dosis liberada y determinación de presión diferencial.



Fuente: Laboratorio de Control de Calidad.

El aparato DUSA debe utilizar un adaptador de boquilla que garantiza que el extremo de la boquilla del inhalador esté a nivel con el extremo abierto del tubo de recolección de la muestra. Además, debe de encontrarse adaptado a una bomba de vacío con la capacidad para extraer una cantidad mayor de aire a la requerida, a la velocidad de flujo especificada, a través del aparato de muestreo y del inhalador simultáneamente.

e. Impactador de siguiente generación clase E.

La distribución de tamaño de partícula define la forma en que el polvo del inhalador se deposita durante la inhalación. La distribución de las partículas finas dentro del impactador se logra cuando el fármaco es extraído desde el inhalador a una velocidad de flujo establecida, pasando a través del preseparator y de las diferentes estaciones dentro del impactador, como se muestra en la figura 7 y 8.

Figura 7. Estaciones en el impactador.

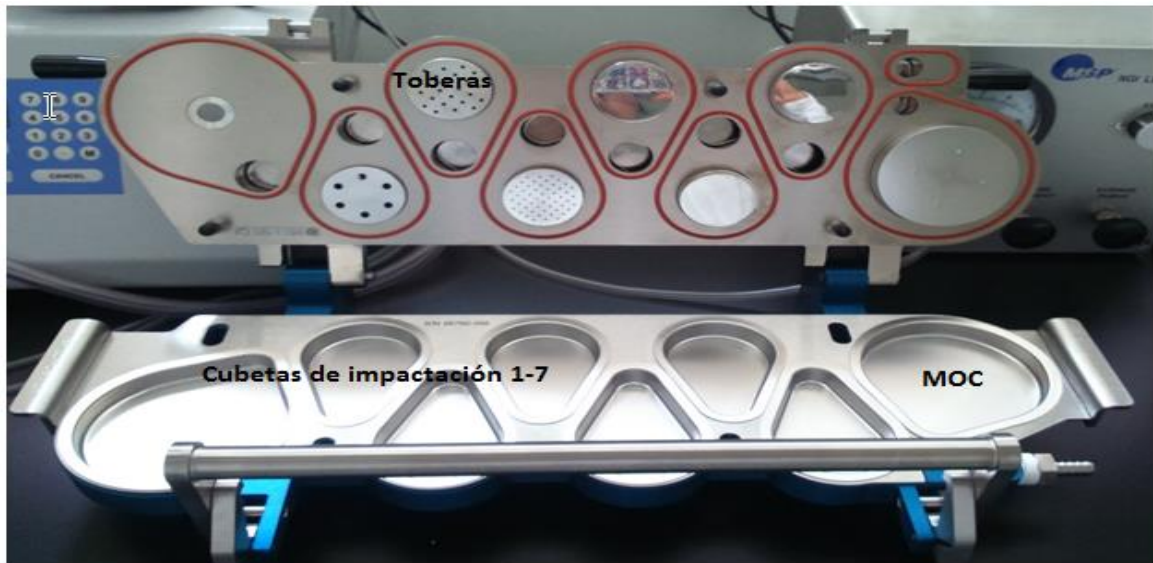


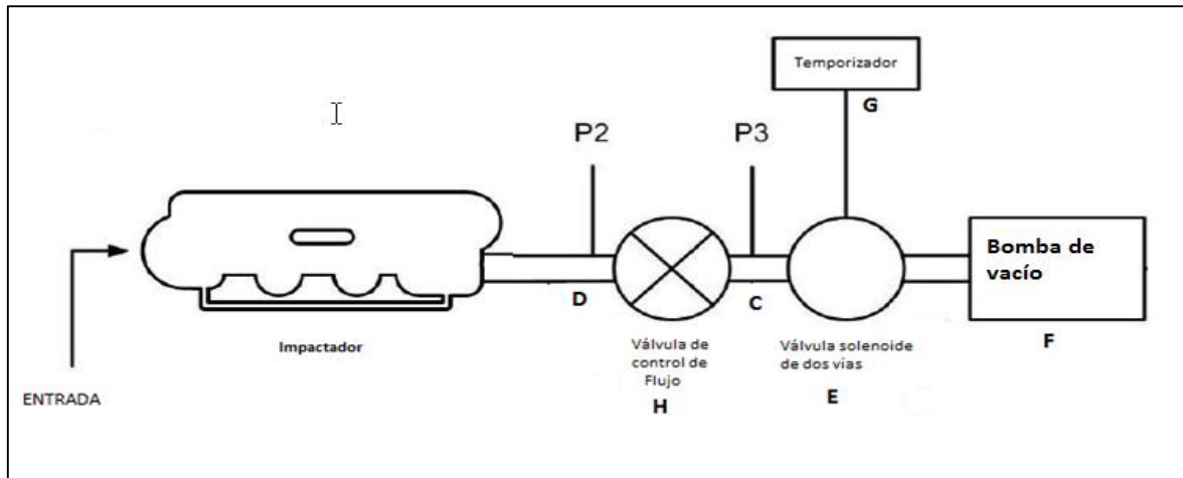
Figura 8. Pre-separador para NGI-E.



Fuente: Laboratorio de control de calidad

El aparato NGI clasifica las partículas del polvo inhalable de acuerdo con sus diámetros aerodinámicos. Al igual que el aparato DUSA, el aparato NGI se debe de adaptar a una válvula de dos vías, operada mediante solenoides y controlada por un temporizador que a su vez se encuentre conectada a una bomba de vacío como se muestra en la figura 9.

Figura 9. Esquema del sistema de extracción adaptado al Impactador de siguiente generación clase E (NGI-E)⁹.



Fuente: Farmacopea europea 8.0.

A continuación, en las tablas 2 y 3 se encuentran las dimensiones requeridas de los diferentes componentes encontrados en las figuras 5 y 9 del aparato de muestreo para inhaladores de polvo seco para la determinación del promedio de dosis liberada, la uniformidad de dosis liberada y la cantidad de partículas finas menores a 5 micras.

Tabla 2. Especificaciones de los componentes para el aparato de muestreo para inhaladores de polvo seco.¹⁰

| Código | Artículo | Dimensiones |
|---------------|-----------------------------------|--|
| A | Tubo de recolección* | 34.85 mm de diámetro interno x 12 cm de longitud. |
| B | Filtro* | Filtro de fibra de vidrio de 47 mm. |
| C | Conector*,** | ≥ 8 mm de diámetro interno. |
| D | Tubería de vacío*,** | Una longitud adecuada de tubería ≥8 mm de diámetro interno con un volumen interno de 25mL±5mL. |
| E | Válvula solenoide de dos vías*,** | Válvula solenoide de dos vías, 2 puertos, con un diámetro interno ≥ de 8 mm y un tiempo de repuesta de apertura de ≤100 milisegundos |
| F | Bomba de vacío*,** | La bomba debe de ser capaz de extraer aire a la velocidad de flujo requerida a través del aparato ensamblado con el inhalador de polvo seco en el adaptador de boquilla. Conectar la bomba a la válvula solenoide empleando una tubería de vacío corta y ancha (≥10 mm de diámetro interno) y conectores para minimizar los requisitos de capacidad de la bomba. |
| G | Temporizador*,** | El temporizador interrumpe o permite el paso de corriente a la válvula solenoide durante el lapso de tiempo requerido. |
| P1 | Llave de paso de presión*,** | 2.2 mm de diámetro interno, 3.1 mm de diámetro externo, a nivel con la superficie interna del tubo de recolección de muestra, centrado y sin rebabas, a 59 mm de su entrada. |
| P1, P2, P3 | Mediciones de presión*,** | Las llaves de presión P1, P2 Y P3 no se abren al exterior durante la recolección de la dosis. |
| H | Válvula de control de flujo*,** | Válvula reguladora ajustable con máximo Coeficiente de flujo ≥1 |
| Impactador | NGI-E ** | Impactador con cascada con siete estaciones y un colector con micro orificios (MOC). |

Fuente: Farmacopea europea 8.0

* Para aparato de muestreo de unidades de dosificación para determinación del promedio de dosis liberada y la uniformidad de contenido.

** Para impactador de siguiente generación para determinación de cantidad de partículas finas menores a 5 micras.

Tabla 3. Dimensiones críticas para el aparato NGI-E ¹⁰

| Descripción | Dimensiones |
|--|--------------------------|
| Preseparador | 12.80 ± 0.05 mm |
| Estación 1 Diámetro de tobera | 14.30 ± 0.05 mm |
| Estación 2 Diámetro de tobera | 4.88 ± 0.04 mm |
| Estación 3 Diámetro de tobera | 2.185 ± 0.02 mm |
| Estación 4 Diámetro de tobera | 1.207 ± 0.01 mm |
| Estación 5 Diámetro de tobera | 0.608 ± 0.01 mm |
| Estación 6 Diámetro de tobera | 0.323 ± 0.01 mm |
| Estación 6 Diámetro de tobera | 0.206 ± 0.01 mm |
| MOC | Aproximadamente 0.070 mm |
| Profundidad de la cubeta | 14.625 ± 0.10 mm |
| Rugosidad de la superficie de la cubeta recolectora | 0.5 µm a 2 µm |
| Estación 1 Distancia de tobera hasta cuerpo sellador | 0 ± 1.18 mm |
| Estación 2 Distancia de tobera hasta cuerpo sellador | 5.236 ± 0.736 mm |
| Estación 3 Distancia de tobera hasta cuerpo sellador | 8.445 ± 0.410 mm |
| Estación 4 Distancia de tobera hasta cuerpo sellador | 11.379 ± 0.237 mm |
| Estación 5 Distancia de tobera hasta cuerpo sellador | 13.176 ± 0.341 mm |
| Estación 6 Distancia de tobera hasta cuerpo sellador | 13.999 ± 0.071 mm |
| Estación 7 Distancia de tobera hasta cuerpo sellador | 14.000 ± 0.071 mm |
| MOC Distancia de tobera hasta cuerpo sellador | 14.429-14.571 mm |

Fuente: Farmacopea europea 8.0.

4.1.7 Diseño experimental:

Por cada lote analizado, se emplean tres diferentes inhaladores, se muestrean según el siguiente esquema:

Tabla 4. Toma de muestra en Inhalador 1

| Número de cavidad. | Actividad | Determinación | Comentario |
|--------------------|-----------------------------------|---|-----------------------|
| 60 | Ajuste a 4KPa ^a | Flujo y tiempo de descarga ^b | Cavidad vacía |
| 59 | Disparo en tubo DUSA ^c | DUSA 1/10 Inicio | Inter-intra inhalador |
| 58 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 2/10 Inicio | Inter-intra inhalador |
| 57 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 3/10 Inicio | Inter-intra inhalador |
| 56-52 | Disparos en NGI-E ^d | Evaluación de partículas finas | 5 disparos |
| 51-33 | Disparos descartados | | |
| 32 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 4/10 Mitad | Intra inhalador |
| 31 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 5/10 Mitad | Intra inhalador |
| 30 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 6/10 Mitad | Intra inhalador |
| 29 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 7/10 Mitad | Intra inhalador |
| 28-8 | Disparos descartados | | |
| 7-3 | Disparos en NGI-E | Evaluación de partículas finas | 5 disparos |
| 2 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 8/10 Final | Intra inhalador |
| 1 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 9/10 Final | Intra inhalador |
| 0 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 10/10 Final | Intra inhalador |

Fuente: Diseño experimental del sitio de transferencia

^a Esta actividad se describe en las páginas 47-49, ver figuras 10, 11 y 12.

^b Esta actividad se describe en las páginas 49-50, ver figura 13.

^c Esta actividad se describe en las páginas 51-55, ver figura 15.

^d Esta actividad se describe en las páginas 56-62, ver figura 16-20.

Tabla 5. Toma de muestra en Inhalador 2

| Número de cavidad. | Actividad | Determinación | Comentario |
|---------------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------|
| 60 | Ajuste a 4KPa. | Flujo y tiempo de descarga | Cavidad vacía |
| 59-57 | Disparos descartados | | |
| 56-52 | Disparos en NGI-E | Evaluación de partículas finas | 5 disparos |
| 51-33 | Disparos descartados | | |
| 32 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 4/10 Mitad | Inter Inhalador |
| 31 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 5/10 Mitad | Inter Inhalador |
| 30 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 6/10 Mitad | Inter Inhalador |
| 29 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 7/10 Mitad | Inter Inhalador |
| 28-8 | Disparos descartados | | |
| 7-3 | Disparos en NGI-E | Evaluación de partículas finas | 5 disparos |

Fuente: Diseño experimental del sitio de transferencia

Tabla 6. Toma de muestra en Inhalador 3

| Número de cavidad. | Actividad | Determinación | Comentario |
|---------------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------|
| 60 | Ajuste a 4KPa. | Flujo y tiempo de descarga | Cavidad vacía |
| 59-57 | Disparos descartados | | |
| 56-52 | Disparos en NGI-E | Evaluación de partículas finas | 5 disparos |
| 51-8 | Disparos descartados | | |
| 7-3 | Disparos en NGI-E | Evaluación de partículas finas | 5 disparos |
| 2 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 8/10 Final | Inter inhalador |
| 1 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 9/10 Final | Inter inhalador |
| 0 | Disparo en tubo DUSA | DUSA 10/10 Final | Inter inhalador |

Fuente: Diseño experimental del sitio de transferencia

4.1.8 Método analítico:

a. Preparación de soluciones.

Para determinar el promedio de dosis liberada, la uniformidad de contenido y la cantidad de partículas finas menores a 5 micras, se realiza primero la preparación de las siguientes soluciones:

- Disolvente.
- Fase móvil A.
- Fase móvil B.
- Solución de lavado para inyector.
- Estándares.
- Solución formadora de película.

Disolvente: Para realizar el análisis de un lote de muestras, se mezclan con un agitador magnético durante 10 minutos 2.75 L de acetonitrilo con 2.25 L de agua. Este disolvente se usa para la recuperación de las muestras y para la preparación de estándares.

Fase móvil A: Para realizar el análisis de un lote de muestras, se mezclan 2.1 L de acetonitrilo con 2.9 L de agua y se adicionan lentamente 5 mL de ácido trifluoroacético. Mezclar perfectamente por aproximadamente 10 minutos con la ayuda de un agitador magnético y después desgasificar en baño ultrasónico por aproximadamente 10 minutos.

Fase móvil B: Acetonitrilo al 100 %

Solución de lavado para el inyector: Se mezclan 900 mL de agua con 100 mL de metanol, esta solución se cambia cada cuatro días en el equipo.

Preparación de estándares.

- Solución estándar de cuantificación: Se prepara una solución que contenga 0.75 µg/mL de salmeterol xinafoato y 2.5 µg/mL de fluticasona propionato,

1.5 mL de la solución se colocan en un vial para HPLC y el vial se coloca en el automuestreador del equipo.

- Solución estándar de confrontación: Se prepara una solución de la misma concentración de la solución de cuantificación, usando pesos independientes de estándares, 1.5 mL de la solución se colocan en un vial para HPLC y el vial se coloca en el automuestreador del equipo.
- Solución estándar para determinar la señal ruido: A partir de las soluciones para la preparación de la solución de cuantificación, se prepara una solución que contenga 0.075 µg/mL de salmeterol xinafoato y 0.05 µg/mL de fluticasona propionato, 1.5 mL de la solución se colocan en un vial para HPLC y el vial se coloca en el automuestreador del equipo.

Preparación de la solución formadora de película: Disuelva 5.0 g de Brij® (reactivo comercial de silicona) en 20.0 mL de etanol, mediante el uso de un sonicador o de un agitador magnético, ya que el Brij® es poco soluble en etanol. Mezcle con ayuda de un agitador magnético 1 mL de la solución de Brij® en etanol y 5.0 g de glicerina para obtener el formador de película.

Después de la preparación de las soluciones con los materiales indicados, se realiza la extracción de las muestras para la determinación del promedio de dosis liberada, uniformidad de dosis liberada y la determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras usando los aparatos:

- DUSA: Aparato de Muestreo de Unidades de Dosificación (Dose Unit Sampling Apparatus).
- NGI-E: Impactador de Próxima Generación clase E (Next Generation Impactor E).

b. Ajuste del sistema de extracción

Ajuste la diferencia de presión del equipo a 4.0 (± 0.5) KPa y determine el flujo de trabajo para tres inhaladores diferentes de la siguiente manera:

1. Encienda la bomba de vacío con el botón verde que se encuentra en el frente como se muestra en la figura 4.
2. El controlador de flujo cuenta con una serie de tuberías del lado derecho: "P1", "PD/PA", "INLET" como se muestra en la imagen de la derecha de la figura 10.

Figura 10. Conexión de tuberías entre el controlador de flujo y el tubo de presión diferencial para determinación de flujo de trabajo.

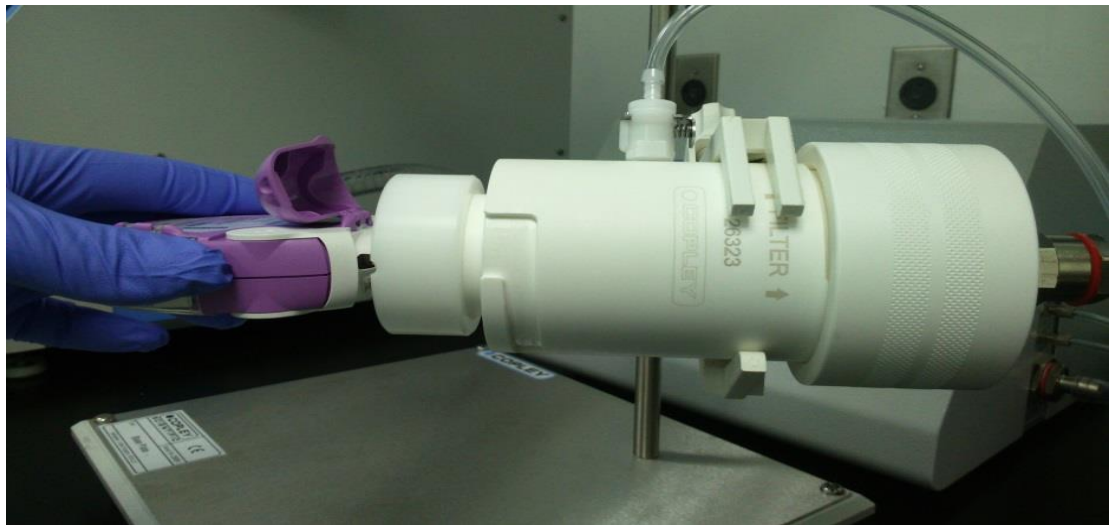


Fuente: Laboratorio de control de calidad

3. Conecte la tubería "INLET" del controlador de flujo con el adaptador de filtro usando una manguera y coloque el tubo para determinación de presión diferencial en el adaptador de filtro.

4. Conecte la tubería “P1” del controlador de flujo en la parte superior del tubo, como se muestra en imagen de la izquierda de la figura 10.
5. Verifique que la tubería “PD/PDA” del controlador de flujo se encuentre abierta a la atmósfera, asegurándose de que no se encuentra bloqueada por algún material.
6. Abra totalmente la válvula solenoide que se encuentra del lado izquierdo del controlador de flujo como se muestra en la figura 4.
7. Adapte la boquilla al tubo para determinación de presión diferencial y coloque el inhalador en la cavidad vacía (Cavidad 60) como se muestra en la figura 11. (Inhalador 1, 2 ó 3, según el esquema de muestreo de las tablas 4, 5 y 6).

Figura 11. Ajuste de presión diferencial.



Fuente: Laboratorio de control de calidad

8. Seleccione la opción “Delta P” del display del controlador de flujo.

- Ajuste a 4.0 (± 0.5) KPa cerrando lentamente la válvula solenoide del controlador de flujo como se muestra en la figura 12. Verifique el dato en el display del controlador de flujo.

Figura 12. Vista del display cuando se ajusta la presión diferencial a 4.0 KPa.



Fuente: Laboratorio del sitio de recepción.

- Retire cuidadosamente el inhalador del tubo para determinación de presión diferencial, lea en el display la P1 y regístrela.
- Coloque el flujómetro en el tubo para la determinación de la presión diferencial ayudándose de un adaptador de hule como se muestra en la figura 13.
- Cerciórese de que el flujómetro se encuentra correctamente adaptado al tubo para la determinación de presión diferencial.
- Lea la velocidad de flujo como se muestra en la figura 13 y registre este valor.

Figura 13. Lectura del flujo de trabajo



Fuente: Laboratorio del sitio de recepción.

14. Calcule el tiempo necesario para realizar la extracción de muestra de la siguiente manera:

$$t = \frac{4 \times 60}{Q}$$

Donde: t: tiempo de la extracción de muestra en segundos.

4: Volumen en litros que debe pasar por el inhalador.

60: para convertir los minutos a segundos.

Q: flujo de trabajo (L/min)

- Todos los disparos realizados para las pruebas, se deben realizar bajo condiciones de temperatura y humedad controladas.
- Para esto, use una campana que trabaje a condiciones de temperatura y humedad controladas. La campana se usa a 50.0% ± 10.0% de humedad relativa y a una temperatura de 22.0°C ± 2.0°C.

- Para los disparos que deben ser descartados, usar el colector Waste Shot una vez por cavidad descartada, durante el tiempo determinado para los disparos de muestra.

c. Preparación de filtros.

Prepare los filtros para la prueba de uniformidad de dosis liberada de la siguiente manera:

- Use filtros de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro.
- Con ayuda de una pinza de punta, coloque los filtros necesarios en platillos de cristalización sin que los filtros se empalmen, coloque máximo tres filtros por platillo.
- Con ayuda de una micropipeta, adicione 750 μL del reactivo sigmacote® (reactivo comercial de silicona en solución) en cada uno de los filtros.
- Coloque los platillos de cristalización con los filtros en la campana de trabajo mientras esta se encuentra encendida y deje secar los filtros por dos horas.
- Los filtros solo pueden ser utilizados cuando ya han sido humectados por el reactivo sigmacote® por al menos dos horas y por no más de cuatro horas.

d. Extracción de muestra para la determinación del promedio de dosis liberada y la uniformidad de contenido.

- Tome un tubo para muestra DUSA y retire ambas tapas con sus empaques: de un lado, adapte una boquilla limpia al tubo, del otro lado del tubo, coloque uno de los filtros previamente humectado entre 2 y 4 horas.

- Coloque la tapa con rejilla que se adapta al controlador de flujo para evitar que el filtro se mueva como se muestra en la figura 14.

Figura 14. Conector del tubo DUSA con rejilla.



Fuente: Laboratorio del sitio de recepción.

- Fije el tubo DUSA al soporte universal mediante las pinzas y conecte el adaptador al controlador de flujo mediante una manguera.
- Encienda la bomba de vacío, seleccione la opción “Run test” que se encuentra a un lado del display del controlador de flujo como se muestra en la figura 4 y seleccione el número 1 del display del controlador de flujo para indicar el número de disparos por realizar (para el promedio de dosis liberada y la uniformidad de dosis liberada se usa un disparo), coloque el tiempo en segundos calculado para la prueba (página 50).
- Realice tres disparos con la pistola antiestática sobre el inhalador, coloque el inhalador en la balanza y tare el inhalador.
- Retire el inhalador de la balanza, active el mecanismo de disparo del inhalador y colóquelo en la boquilla asegurándose que la boquilla se encuentre perfectamente adaptada al inhalador y de forma inmediata oprima el botón “Run” del controlador de flujo como se observa abajo en la figura 15.

- Espere el tiempo necesario para que el controlador de flujo realice la descarga de la muestra y espere hasta que el display indique que el disparo ha sido completado.

Figura 15. Extracción de muestra para determinación del promedio de dosis liberada y la uniformidad de dosis liberada.



Fuente: Laboratorio del sitio de recepción.

- Retire y cierre el inhalador del tubo DUSA, realice tres disparos con la pistola antiestática sobre el inhalador y coloque el inhalador nuevamente en la balanza.
- Registre el peso negativo (Peso del disparo depositado en el tubo DUSA).
- Con mucho cuidado, retire la boquilla del tubo DUSA y colóquela en un embudo para polvos y tape inmediatamente este lado del tubo DUSA mediante una tapa con empaque.
- Retire la manguera que une el adaptador al controlador de flujo.
- Retire el tubo DUSA del soporte universal y colóquelo de forma vertical sobre la tapa que ya está colocada.

- Retire la tapa con rejilla con mucho cuidado, asegurándose de que el filtro no se caiga y con ayuda de unas pinzas, hunda el filtro hasta el fondo del tubo.
- Coloque el embudo que contiene la boquilla sobre el tubo DUSA y enjuague la boquilla que se encuentra sobre el embudo con tres porciones de 10.0 mL cada una del disolvente preparado (ver página 45).
- Retire la boquilla del embudo con ayuda de una pinza y enjuague el embudo con dos porciones más de 10.0 mL cada una de disolvente.
- Tape el tubo DUSA con otra tapa con empaque (El tubo DUSA tendrá dentro 50.0 mL de disolvente y el filtro).
- Coloque el tubo DUSA en la parrilla de agitación por 10 minutos activando la función rotatoria y la función de bamboleo a 90 ± 5 movimientos por minuto.
- Después de 10 minutos, destape el tubo por uno de sus extremos y filtre una porción de la muestra mediante un filtro PTFE 0.45 μm , desechando los primeros 5 mL del filtrado y recuperando la muestra filtrada en un vial.
- Repita la preparación de muestra las veces necesarias según el esquema de muestreo de las tablas 4, 5 y 6 para cada inhalador, según corresponda.
- Coloque las 17 muestras obtenidas de los tres inhaladores en el automuestreador del cromatógrafo de líquidos de alta resolución.

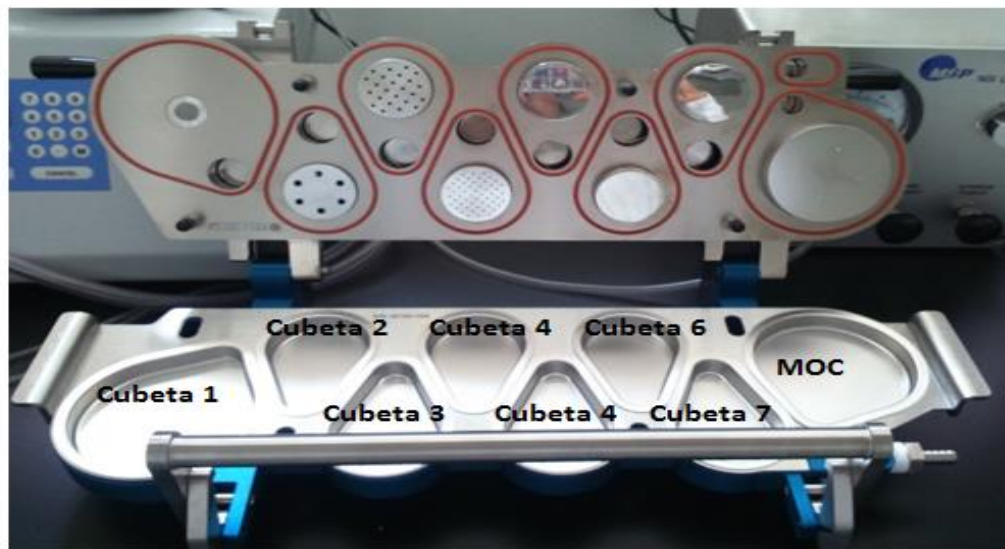
| | | |
|--------------|----|----------|
| Inhalador 1: | 10 | muestras |
| Inhalador 2: | 4 | muestras |
| Inhalador 3: | 3 | muestras |
| <hr/> | | |
| Total: | 17 | muestras |

Después de la realización de la extracción de muestras, proceda a inyectar las soluciones de los viales del automuestreador siguiendo las indicaciones de las condiciones cromatográficas para realiza la cuantificación y determinar el promedio de dosis liberada y la uniformidad de dosis para los principios activos de salmeterol xinafoato y fluticasona propionato mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución.

e. Extracción de muestra para la determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras usando el impactador de siguiente generación clase E (NGI-E)

- Ensamble el impactador de acero inoxidable para la determinación de la cantidad de partículas finas Aparato E, colocando dentro las 8 cubetas de acero inoxidable como se observa en la figura 16.

Figura 16. Vista interior del impactador clase E y de las cubetas 1 – 7 y la cubeta MOC.



Fuente: Laboratorio del sitio de recepción.

- Con ayuda de un bulbo de plástico, coloque 1 gota de la solución formadora de película en cada una de las cubetas que se encuentran dentro del impactador desde la cubeta 2 hasta la cubeta 7.
- Con el mismo bulbo de plástico, coloque 2 gotas del formador de película en la cubeta 1 y en la cubeta MOC (cubeta 8), distribuya el formador de película en el fondo de cada una de las 8 cubetas, con ayuda de un paño limpio y cierre el impactador.

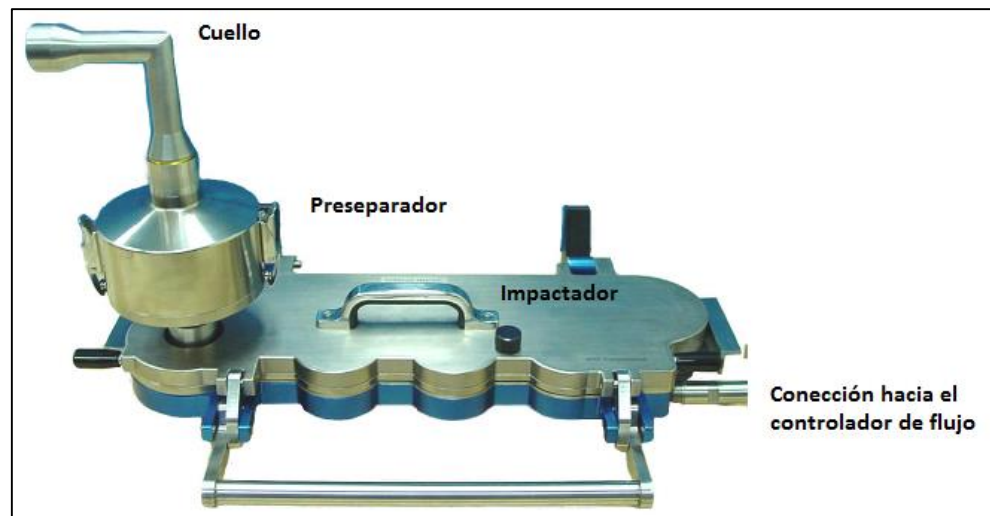
- Coloque la primera estación de impactación en la base del preseparador, coloque sobre la base del impactador el cuerpo del preseparador y cierre con ayuda de los dos broches que se encuentran en las orillas del preseparador y adapte el cuello con la boquilla a la entrada del cuerpo del preseparador y el adapte el preseparador armado al impactador como se muestra en la figura 17 y figura 18.

Figura 17. Partes del preseparador.



Fuente: Laboratorio del sitio de recepción.

Figura 18. Ensamblado del preseparador con el impactador.



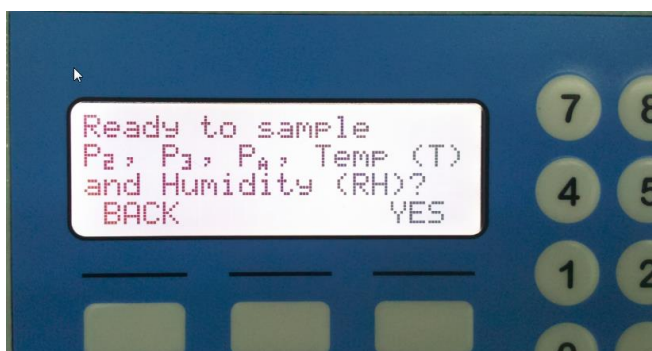
Fuente: Laboratorio del sitio de recepción.

- Conecte el impactador ensamblado con el preseparator al controlador de flujo, tape la boquilla del impactador de forma hermética y realice la prueba de fuga, de acuerdo al siguiente punto:

Para realizar la prueba de fuga, prenda la bomba de vacío y seleccione en el display la opción "Leak Tester", y deje transcurrir 20 segundos. Después de 20 segundos de la prueba, registre el valor obtenido (que debe de ser menor a 2.0 KPa).

- Retire la tapa de la boquilla y con la bomba encendida determine la Presión 2 y la Presión 3 seleccionando en el display esta opción la cual se muestra en la figura 19. Asegúrese que la relación P_3/P_2 sea menor a 0.5, esto para asegurar que se produzca un flujo crítico en la válvula de control de flujo. Registre los valores de P2 y P3.

Figura 19. Determinación de P2 y P3.



Fuente: Laboratorio del sitio de recepción.

- Al terminar la determinación de la presión 2 y de la presión 3, retire el cuello del preseparator y, por la parte superior del pre-separator, con un dispensador, adicione cuidadosamente 15.0 mL del disolvente de trabajo de tal forma que el disolvente quede en la primera estación de impactación.
- Coloque nuevamente el cuello al preseparator y asegúrese que la boquilla se encuentra colocada herméticamente.

- Una vez realizada la preparación del impactador clase E, encienda la bomba de vacío, seleccione la opción “Run test” y coloque el número 5 en el número de disparos por realizar desde el inhalador, coloque el tiempo calculado para la prueba que se determinó en la página 50.
- Realice tres disparos con la pistola antiestática sobre el inhalador y coloque el inhalador en la balanza y tare.
- Retire el inhalador de la balanza y active el mecanismo de disparo del inhalador y colóquelo en la boquilla asegurándose que la boquilla se encuentre perfectamente adaptada al inhalador y de forma inmediata oprima el botón “Run” del controlador de flujo.
- Espere el tiempo necesario para que el controlador de flujo realice la descarga de la muestra y espere hasta que el display indique que el disparo ha sido completado.
- Retire y cierre el inhalador del aparato E, realice tres disparos con la pistola antiestática sobre el inhalador y colóquelo nuevamente en la balanza.
- Registre el peso negativo, peso del disparo depositado en el impactador clase E.
- Apague la bomba y espere aproximadamente un minuto, antes de realizar el siguiente disparo del inhalador.
- Registre los pesos negativos de los 5 disparos depositados en el aparato E, cada vez que realice los descargos.

- Complete los 5 disparos y recupere el activo de las diferentes partes del aparato E usando el disolvente preparado en la página 45.

a) Boquilla y cuello.

- Retire cuidadosamente la boquilla del cuello del aparato y colóquela en un platillo de cristalización, retire el cuello del pre-separador y colóquela con las entradas hacia arriba en el platillo de cristalización junto con la boquilla, tape inmediatamente el pre-separador.
- Con la ayuda de un dispensador, coloque 22.5 mL de solvente por cada una de las entradas del cuello (total 45.0 mL) y con ayuda de un bulbo, enjuague la parte interna de ambos extremos del cuello.
- Coloque el contenido del cuello sobre la boquilla en el platillo de cristalización y con ayuda del bulbo enjuague la parte externa de los extremos del cuello y enjuague la boquilla.
- Remueva la solución en el platillo de cristalización de forma circular por 15 segundos y con ayuda del bulbo y sin filtrar, recupere la muestra en un vial para CLAR y coloque la muestra en el automuestreador del cromatógrafo.

b) Pre-separador.

- Retire el pre-separador del impactador y tape inmediatamente la parte inferior.
- Retire la tapa de la parte superior y coloque 100.0 mL de solvente, en 5 alícuotas de 20.0 mL cada una con ayuda de un dispensador (total 115mL).

- Tape inmediatamente y tome el pre-separador con ambas manos de las tapas. Agite manualmente haciendo movimientos de un lado a otro y haciendo girar a la vez el pre-separador, esto por 60 segundos, recupere la muestra del fondo y colóquela en un vial para CLAR y coloque en el automuestreador del cromatografo.

c) Cubetas de impactación.

- Abra cuidadosamente el impactador, cuidando que ninguna de las cubetas se quede adherida a la parte superior. La distribución de los principios activos en las cubetas se debe de observar como en la figura 20.
- En las cubetas 1, 2,3 y 4 coloque 15.0 mL de solvente en cada una, en las cubetas 5, 6,7 y MOC coloque 10.0 mL de solvente en cada una.
- Cuidadosamente, coloque el rack de cubetas en un agitador y cubra inmediatamente con la tapa de acrílico cubierta con parafilm.

Figura 20. Vista de las cubetas del aparato impactador antes de la recuperación del activo.



Fuente: Laboratorio del sitio de recepción.

- Durante 5 minutos active la función de bamboleo del agitador a 60 ± 5 movimientos por minuto.

- Terminado el tiempo y de forma inmediata, recupere de forma individual, la solución de cada una de las cubetas usando un bulbo por cada una, y colocando la solución sin filtrar en un vial para CLAR cada vez, de tal forma que se recuperarán 8 viales, un vial por cada cubeta.
- Coloque los viales en el automuestreador del cromatógrafo.
- Repita la preparación de muestra las veces necesarias según el esquema de muestreo de las tablas 4, 5 y 6 para cada inhalador, según corresponda.
- Al finalizar el esquema de análisis para NGI del lote, se tendrán las siguientes muestras:

Inhalador 1: 20 Muestras de dos muestreos.

Inhalador 2: 20 Muestras de dos muestreos.

Inhalador 3: 20 Muestras de dos muestreos.

Total: 60 muestras

Después de la realización de la extracción de muestras, proceda a inyectar la soluciones de los viales del automuestreador siguiendo las indicaciones de las condiciones cromatográficas para realizar la cuantificación y determinar la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para los principios activos salmeterol xinafoato y fluticasona propionato mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución.

f. Condiciones cromatográficas

En la tabla 7 se señalan las condiciones cromatográficas usadas para la inyección de estándares y muestras para la determinación del promedio de dosis liberada, uniformidad de dosis liberada y cantidad de partículas menores a 5 micras para realizar la cuantificación de los principios activos salmeterol y fluticasona propionato por la técnica analítica de cromatografía líquida de alta resolución, en la figura 21, se muestra el esquema de gradiente en el cromatógrafo.

Tabla 7. Condiciones cromatográficas para realizar la cuantificación de los principios activos salmeterol y fluticasona propionato.

| Parámetros | Condiciones |
|---------------------------------|--------------------------------------|
| Columna | ACT ACE3 C18, 100 x 4.6 mm 3µm 300 Å |
| Longitud de onda | 225 nm |
| Velocidad de flujo | 1.5 mL/min |
| Volumen de inyección | 25 µL |
| Temperatura de columna | 30°C |
| Temperatura del automuestreador | 5°C |

Fuente: Técnica analítica del sitio de transferencia

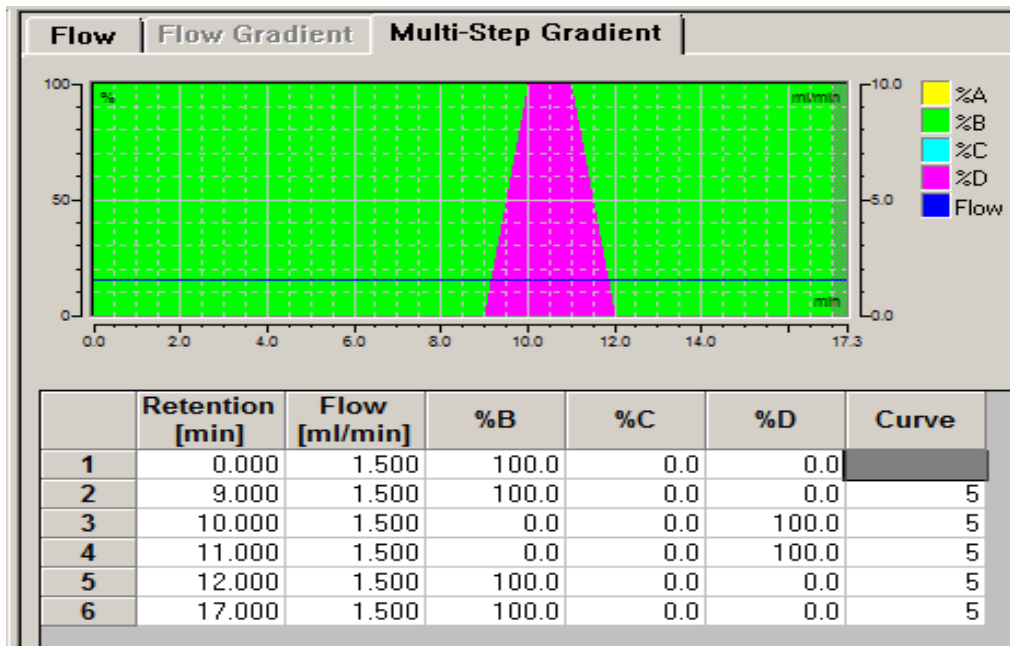
En la tabla 8 se muestra el gradiente de corrida usado para muestras, estándares, solución de señal ruido y solución vacía.

Tabla 8. Gradiente de corrida.

| Tiempo (min) | % Fase móvil A | % Fase móvil B |
|--------------|----------------|----------------|
| 0 | 100 | 0 |
| 9 | 100 | 0 |
| 10 | 0 | 100 |
| 11 | 0 | 100 |
| 12 | 100 | 0 |
| 17 | 100 | 0 |

Fuente: Técnica analítica del sitio de transferencia

Figura 21: Gradiente en software chromeleon.



Fuente: Chromeleon 6.8

Una vez que se tiene listo el sistema cromatográfico con las condiciones indicadas en la metodología, se inyectan las siguientes soluciones:

1. Coloque 1.5 mL de solvente en un vial para HPLC y coloque en el automuestreador del equipo. Inyecte 25 μ L del solvente por duplicado.
2. Inyecte 25 μ L del estándar de cuantificación que contiene 0.75 μ g/mL de salmeterol xinafoato (solo se considera el pico que corresponde a salmeterol para la cuantificación) y 2.5 μ g/mL de fluticasona propionato por sextuplicado.
3. Inyecte 25 μ L del estándar de confrontación que contiene 0.75 μ g/mL de salmeterol xinafoato (solo se considera el pico que corresponde a salmeterol para la confrontación) y 2.5 μ g/mL de fluticasona propionato por duplicado.
4. Inyecte el estándar para la determinación de señal ruido por duplicado.

Una vez que verifique que se cumplen los parámetros de adecuabilidad, inyecte la secuencia de muestras inyectando un estándar intermedio después de cada 10 inyecciones de muestra y dos al final de la secuencia.

Al finalizar la secuencia, lave la columna por al menor 2 horas con un gradiente de inicio agua:acetonitrilo 80:20 y por último agua:acetonitrilo 15:85 a una velocidad de flujo de 0.5 mL/min. Pasado el tiempo de lavado de la columna, detenga el flujo y resguarde la columna.

Procese los cromatogramas obtenidos en el equipo de cromatografía líquida de alta resolución mediante el software Chromeleon 6.8, obteniendo las áreas de los principios activos de salmeterol y fluticasona propionato para cada una de las inyecciones de muestra.

Realice los cálculos de promedio de dosis liberada, uniformidad de dosis liberada y de cantidad de partículas finas menores a 5 micras usando las áreas obtenidas en los cromatogramas de muestras y estándares.

4.1.9 Cálculos para la determinación del promedio de dosis liberada y la uniformidad de dosis liberada de las muestras que se analizaron mediante la técnica analítica de cromatografía líquida de alta resolución.

Calcule el contenido de los principios activos de salmeterol y fluticasona propionato en cada una de las 17 diferentes muestras DUSA usando las áreas obtenidas por el software chromeleon 6.8 mediante las siguientes formulas:

Contenido de Salmeterol en μg

$$\frac{\text{Amtra}}{\text{Astd}} \times \text{Wstd} \times \frac{\text{Pot \%}}{100\%} \times 0.0000375 \times 50 \times 0.6883 \times 1000$$

Donde:

Amtra: Área del pico de salmeterol en la muestra.

Astd: Promedio de áreas del pico de salmeterol en el estándar.

Wstd: Peso del estándar de salmeterol xinafoato en mg.

Pot %: Potencia del estándar en %.

0.0000375: Factor de dilución del estándar.

50: Factor de dilución de la muestra.

0.6883: Corrección de masas moleculares.

1000: Conversión de mg a μg .

Contenido de Fluticasona propionato en μg

$$\frac{\text{Amtra}}{\text{Astd}} \times \text{Wstd} \times \frac{\text{Pot \%}}{100\%} \times 0.000125 \times 50 \times 1000$$

Donde:

- Amtra: Área del pico de fluticasona propionato en la muestra.
- Astd: Promedio de áreas del pico de fluticasona propionato en el estándar.
- Wstd: Peso del estándar de fluticasona propionato en mg.
- Pot %: Potencia del estándar en %.
- 0.000125: Factor de dilución del estándar.
- 50: Factor de dilución de la muestra.
- 1000: Conversión de mg a μg .

4.1.10 Cálculos para la determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras de las muestras que se analizaron mediante la técnica analítica de cromatografía líquida de alta resolución.

Calcule el contenido de los principios activos en cada uno de los 60 viales mediante las siguientes fórmulas:

Contenido de Salmeterol en μg

$$\frac{\text{Amtra}}{\text{Astd}} \times \text{Wstd} \times \frac{\text{Pot \%}}{100\%} \times 0.0000375 \times \text{D Muestra} \times 0.6883 \times 1000$$

Donde:

Amtra: Área del pico de salmeterol en la muestra

Astd: Promedio de áreas del pico de salmeterol en el estándar.

Wstd: Peso del estándar de salmeterol xinafoato en mg

Pot %: Potencia del estándar en %

0.0000375: Factor de dilución del estándar

D Muestra: Factor de dilución de la muestra (45 mL Cuello, 115mL Pre-separador, 15mL cubetas 1-4, 10 mL cubetas 5-MOC)

0.6883: Corrección de masas moleculares

1000: Conversión de mg a μg

Contenido de Fluticasona propionato en μg

$$\frac{\text{Amtra}}{\text{Astd}} \times \text{Wstd} \times \frac{\text{Pot \%}}{100\%} \times 0.000125 \times \text{D Muestra} \times 1000$$

Dónde:

- Amtra: Área del pico de Fluticasona propionato en la muestra
- Astd: Promedio de áreas del pico de Fluticasona propionato en el estándar.
- Wstd: Peso del estándar de Fluticasona propionato en mg
- Pot%: Potencia del estándar en %
- 0.000125: Factor de dilución del estándar
- D Muestra: Factor de dilución de la muestra (45 mL Cuello, 115mL Pre-separador, 15mL cubetas 1-4, 10 mL cubetas 5-MOC)
- 1000: Conversión de mg a μg

La evaluación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras con el impactador clase E, se calcula de acuerdo con la Ph. Eur 2.9.18 usando una hoja de cálculo.

Para el cálculo, tenga a la mano los flujos de trabajo y las cantidades de activo cuantificadas en cada una de las secciones mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución.

4.1.11 Criterios de aceptación:

Tabla 9. Requerimientos para el cumplimiento de la adecuabilidad del sistema cromatográfico.

| Parámetro | Principio activo | Especificación |
|--|------------------------|-----------------|
| Simetría | Salmeterol | ≤ 1.8 |
| | Fluticasona propionato | ≤ 1.5 |
| SNS | Salmeterol | ≥ 10 |
| | Fluticasona propionato | |
| Resolución | Salmeterol/Xinafoato | ≥ 1.6 |
| Precisión del estándar 1 (6 inyecciones) | Salmeterol | %RSD ≤ 2.0 |
| | Fluticasona propionato | |
| Recobro entre estándar 1 y estándar 2 | Salmeterol | 98-102% |
| | Fluticasona propionato | |

Fuente: Método analítico del sitio de transferencia.

Tabla 10. Especificación para la determinación de cantidad de partículas finas menores a 5 micras.

| Dosis de principios activos contenidos en el inhalador. | Especificación | |
|---|-----------------|-----------------------------|
| | Salmeterol (µg) | Fluticasona propionato (µg) |
| 50 µg/100 µg | 5 - 15 | 17-30 |
| 50 µg/250 µg | | 45-75 |
| 50 µg/500 µg | | 100-150 |

Fuente: Método analítico del sitio de transferencia.

Tabla 11. Especificación para la determinación de promedio de dosis liberada:

| Dosis de principios activos contenidos en el inhalador. | Especificación | |
|---|-----------------|-----------------------------|
| | Salmeterol (µg) | Fluticasona propionato (µg) |
| 50 µg/100 µg | 38-52 | 79 - 107 |
| 50 µg/250 µg | | 198 - 268 |
| 50 µg/500 µg | | 395 - 535 |

Fuente: Método analítico del sitio de transferencia.

Tabla 12. Criterios para la aprobación de la transferencia de la metodología analítica.

| Determinación | Parámetro | criterio de aceptación. |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------------|
| Partículas finas menores a 5 micras | Presición inter-lab | $\Delta \leq 20\%$ |
| | Presición intra-lab | RSD $\leq 20\%$ |
| Uniformidad de dosis liberada. | Presición inter-lab | $\Delta \leq 10\%$ |
| | Presición intra-lab | RSD $\leq 10\%$ |

Fuente: Método analítico del sitio de transferencia.

Uniformidad de dosis intra inhalador e inter inhalador.

Primer Criterio: La preparación cumple la uniformidad de dosis liberada intra inhalador siempre que 9 de los 10 resultados se encuentren en el rango 75 % -125 % respecto al promedio de los 10 valores y todos los valores se encuentren en el rango 65 % - 135 % respecto al promedio de los 10 valores para los dos activos salmeterol y fluticasona propionato.

Segundo criterio: Si 2 ó 3 valores están fuera del rango 75 % - 125 %, la prueba se repite para 2 inhaladores adicionales. En este caso, no más de 3 de los 30 valores se encuentran fuera del rango 75 % - 125 % y ningún valor se encuentra fuera del rango 65 % - 135 %, calculados respecto al promedio de los 30 valores para los dos activos salmeterol y fluticasona propionato.

4.2 Entrenamiento en el sitio de transferencia.

Después de la aprobación del protocolo, se realizó la selección de un químico analista para recibir el entrenamiento por parte del sitio de transferencia, que cumpliera al menos con los siguientes requerimientos:

- Debe contar con un tiempo mínimo de 1 año en el puesto.
- Tener al menos dos años de experiencia en la técnica de cromatografía líquida de alta resolución.
- Tener al menos dos años de experiencia en el manejo de instrumentos de laboratorio.
- Tener al menos un año de experiencia en el uso del software Chromeleon.

Una vez que se verificó que el químico analista cumpliera con los requisitos para la realización de la transferencia, se solicitó al sitio de transferencia que se realizara la capacitación del químico analista en el uso de los aparatos DUSA (Dose Unit Sampling Apparatus- Aparato de Muestreo de Unidades de Dosificación) y NGI clase E (Next Generation Impactor class E- Impactador de Próxima Generación clase E) en el sitio de transferencia (Rudolstadd, Alemania).

La capacitación en Rudolstadd se impartió por una experta del sitio que realiza el análisis de este producto inhalable desde hace tres años y que además ha entrenado a químicos analistas de otros países en este mismo producto.

La capacitación en el sitio, se realiza en varias fases:

1. Explicación por la experta sobre el uso de los aparatos DUSA y NGI.
2. Demostración de muestreo del producto inhalable usando los equipos DUSA y NGI por la experta del proceso.
3. Familiarización con los aparatos DUSA y NGI por el químico analista del sitio de recepción.
4. Preparación de estándares, fases móviles y diluentes por parte del químico analista del sitio de recepción.

5. Realización de un lote completo de prueba por el químico analista del sitio de recepción (3 dispositivos: 17 muestreos DUSA y 6 muestreos NGI) con ayuda de la experta.
6. Cuantificación de los principios activos salmeterol xinafoato y fluticasona propionato por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución en las muestras obtenidas en la realización de la marcha completa para en análisis de un lote de producto.
7. Realización de cálculos.
8. Determinación del promedio de dosis liberada y de la uniformidad de dosis liberada para los activos salmeterol xinafoato y fluticasona propionato.
9. Determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras de los activos salmeterol xinafoato y fluticasona propionato.
10. Demostración del lavado de los materiales empleados.

Después de la determinación del promedio de dosis liberada, la uniformidad de dosis liberada y de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras de los activos salmeterol xinafoato y fluticasona propionato por parte del químico analista del sitio de recepción, la experta en el proceso concluye que los resultados obtenidos son comparables con los resultados obtenidos normalmente en el análisis de rutina.

Durante la evaluación de los resultados obtenidos por el químico del sitio de recepción, la experta indica que para fines de capacitación sobre el uso de los aparatos DUSA y NGI no es necesario realizar una comparación cuantitativa, debido a que esta comparación se realiza formalmente con los tres lotes que serán transferidos al sitio.

Todos los equipos, materiales, reactivos e insumos necesarios definidos en el protocolo, fueron adquiridos por el sitio de recepción, se ejecutaron las técnicas analíticas en el sitio de recepción por el químico analista entrenado usando las metodologías analíticas indicadas por el sitio en el protocolo de la transferencia.

Se ejecutaron las técnicas analíticas conforme al método analítico y conforme a las buenas prácticas de laboratorio, siguiendo las tablas 4, 5 y 6 del diseño del experimento en los tres lotes aprobados para la transferencia.

4.3 Resultados obtenidos en el sitio de recepción

4.3.1 Cromatogramas y adecuabilidad del sistema:

A continuación, en la tabla 13 se muestran los resultados de la adecuabilidad del sistema cromatográfico, para verificar el cumplimiento de los estándares inyectados y así realizar la cuantificación de las muestras de forma correcta para los activos de salmeterol y fluticasona propionato.

Tabla 13. Resultados de adecuabilidad del sistema cromatográfico.

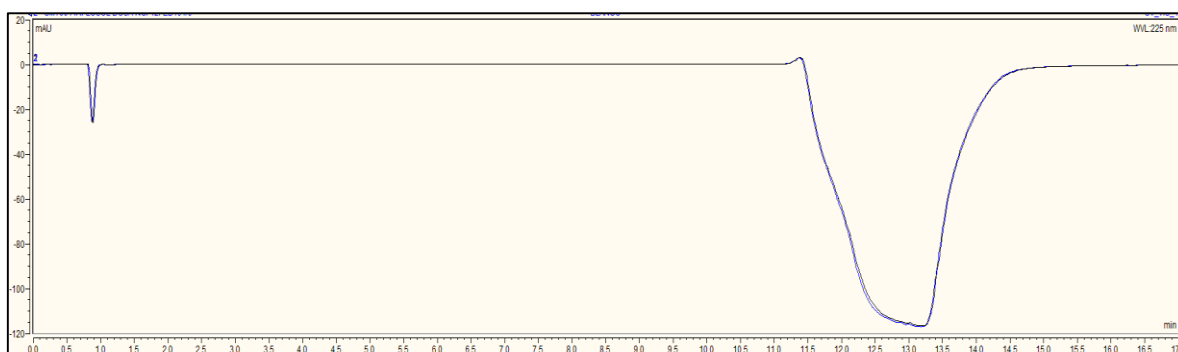
| # | Parámetro | Principio activo | Condición | Nombre de la inyección | Valores | Resultado | Especificación |
|---|---------------------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|---------|-----------|----------------|
| 1 | Simetría del pico | Salmeterol | Promedio de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 1.401 | 1.4 | Menor a 1.8 |
| | | | | Adecuabilidad | 1.330 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.319 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.341 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.364 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.372 | | |
| 2 | Simetría del pico | Fluticasona propionato | Promedio de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 1.237 | 1.2 | Menor a 1.5 |
| | | | | Adecuabilidad | 1.191 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.235 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.248 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.239 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.248 | | |
| 3 | Señal ruido | Salmeterol | Promedio de 3 inyecciones | SNS | 35.431 | 32.6 | Mayor a 10 |
| | | | | SNS | 38.620 | | |
| | | | | SNS | 23.874 | | |
| 4 | Señal ruido | Fluticasona propionato | Promedio de 3 inyecciones | SNS | 21.987 | 21.3 | Mayor a 10 |
| | | | | SNS | 16.545 | | |
| | | | | SNS | 25.332 | | |
| 5 | Resolución | Salmeterol / Xinafoato | Promedio de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 3.799 | 3.8 | Mayor a 1.6 |
| | | | | Adecuabilidad | 3.799 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 3.787 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 3.813 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 3.809 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 3.795 | | |
| 6 | Desviación estándar relativa del área | Salmeterol | DER de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 0.160 | 0.6 | Menor a 2.0 |
| | | | | Adecuabilidad | 0.158 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 0.158 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 0.160 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 0.158 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 0.158 | | |
| 7 | Desviación estándar relativa del área | Fluticasona propionato | DER de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 1.072 | 1.1 | Menor a 2.0 |
| | | | | Adecuabilidad | 1.044 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.072 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.063 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.074 | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.073 | | |

Fuente: Chromeleon 6.8

A continuación, se muestran los cromatogramas obtenidos durante la inyección de la secuencia cromatográfica.

En la figura 22 se muestra el cromatograma obtenido de la inyección de la solución vacía, en donde se puede observar claramente las diferentes fases del gradiente en el equipo.

Figura 22. Cromatograma de solución vacía.



Fuente: chromeleon 6.8

En la figura 23 se observan el estándar de cuantificación y el estándar de comparación, que se preparan de dos juegos de pesadas de estándares de salmeterol xinafoato y fluticasona propionato de forma independiente y que presentan áreas similares.

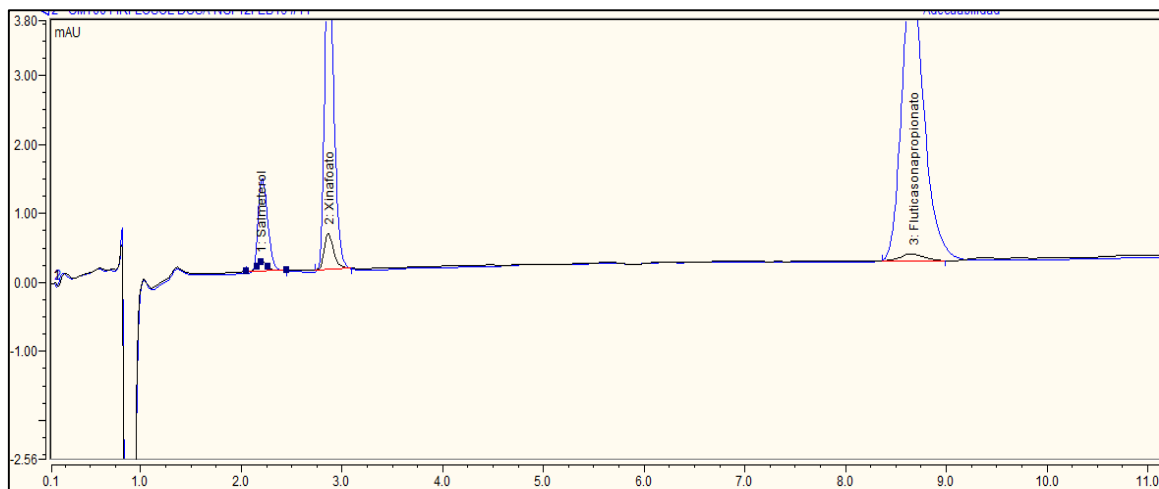
Figura 23. Cromatogramas del estándar de cuantificación y del estándar de comparación.



Fuente: chromeleon 6.8

En la figura 24 se observan los cromatogramas de estándar de cuantificación y de señal ruido, de tal forma que, al sobreponerlos, en el cromatograma de señal ruido se observa la baja concentración a la que se encuentra. Además, con este aumento de escala al cromatograma se observa que no hay ruido del sistema cromatográfico que interfiera con la integración correcta de los principios activos, además de que la señal ruido también se calcula con el software como se muestra en la tabla 13 en los puntos 3 y 4.

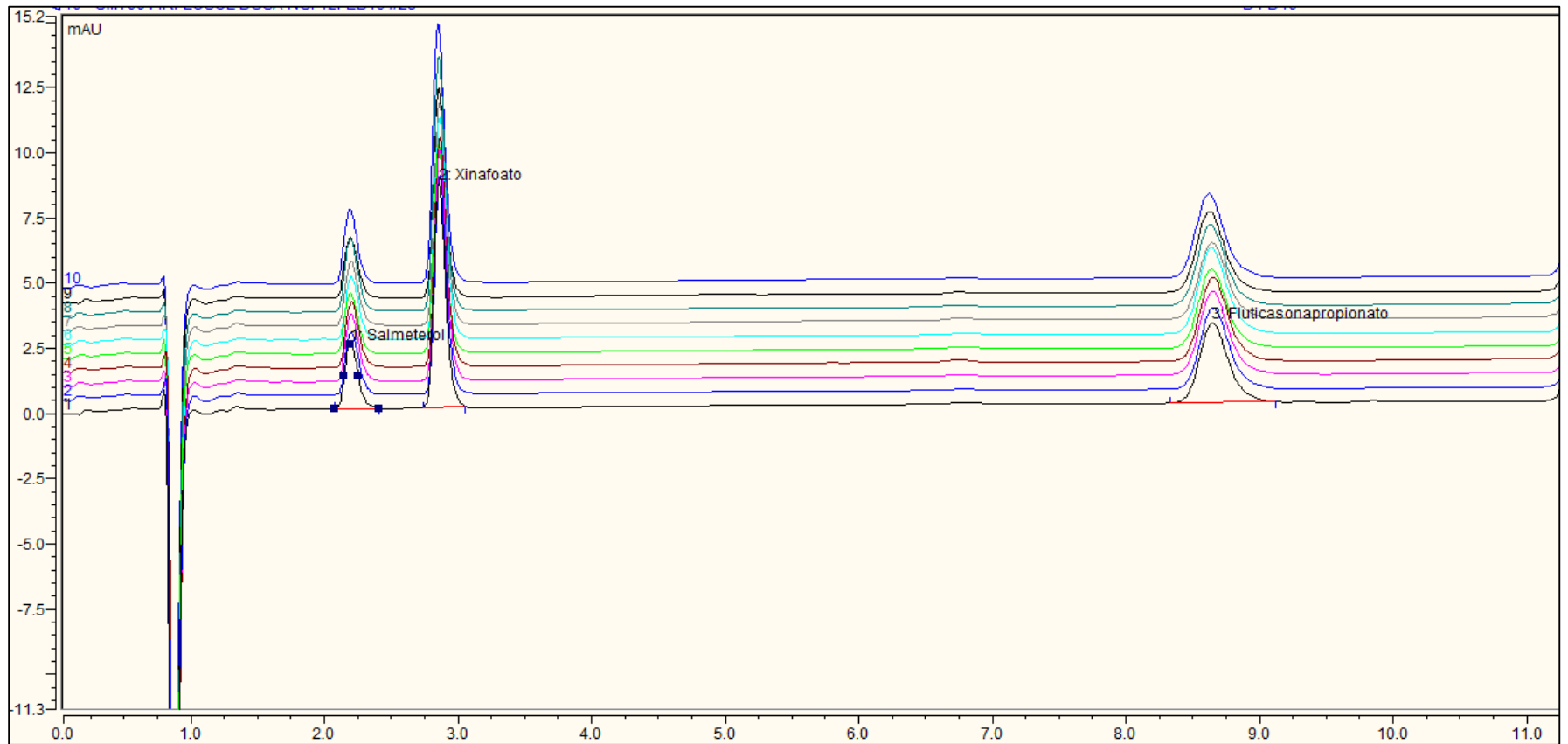
Figura 24. Cromatograma del estándar de cuantificación y del estándar de SNS.



Fuente: chromeleon 6.8

En la figura 25 se observan los cromatogramas sobrepuestos de las muestras para la determinación de la uniformidad de dosis liberada intra-inhalador para la dosis 50/100.

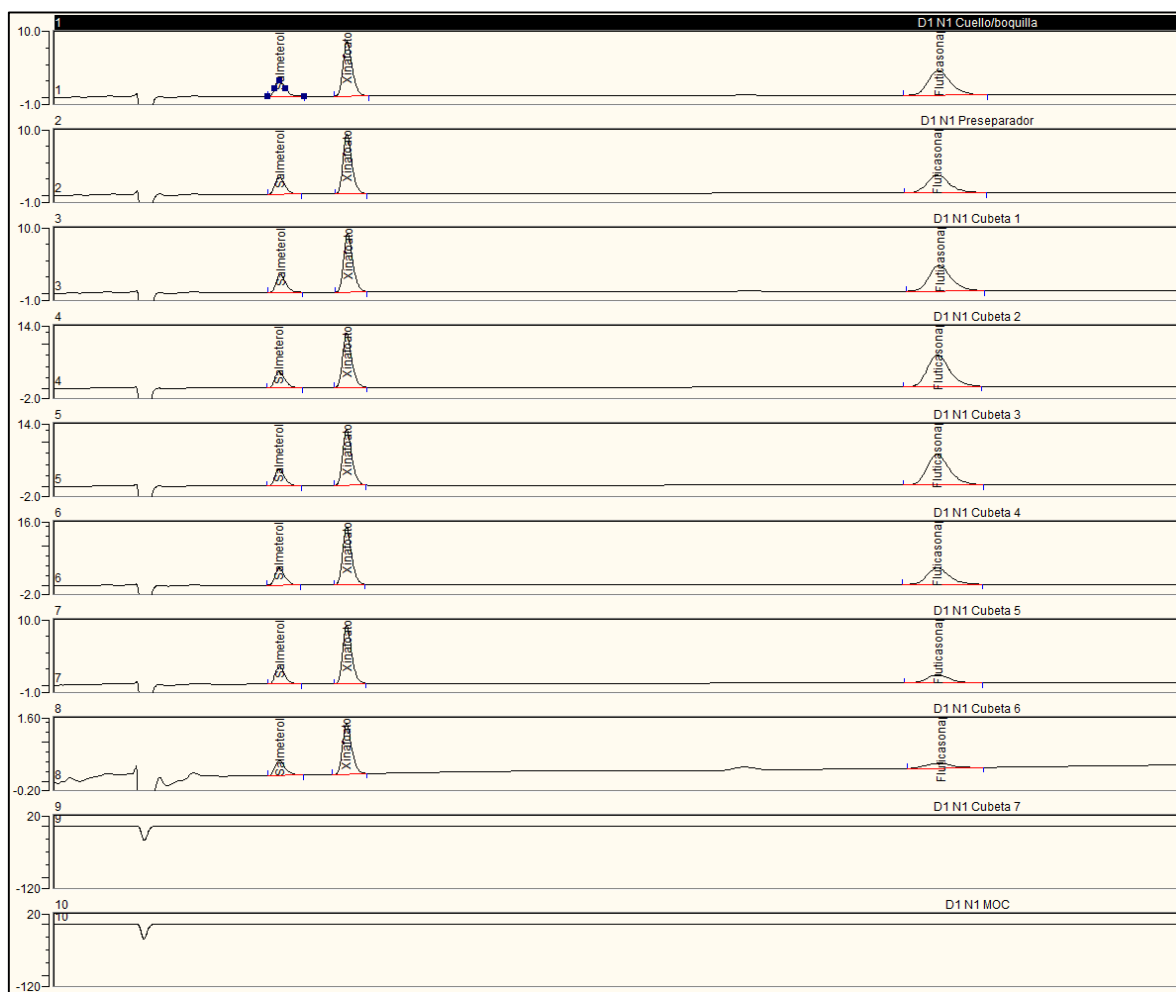
Figura 25. Cromatogramas de muestras de uniformidad de dosis liberada.



Fuente: chromeleon 6.8

En la figura 26 se observan la inyección de los 10 viales que conforman un muestreo del impactador de siguiente generación clase E para el producto inhalable de dosis 50/100.

Figura 26. Cromatogramas de las diez soluciones obtenidas de un muestreo del impactador clase E.



Fuente: chromeleon 6.8

4.3.2 Determinación promedio de dosis liberada.

Para obtener el promedio de dosis liberada de cada uno de los principios activos, se obtiene el promedio de las 17 determinaciones de los contenidos para salmeterol y para fluticasona propionato:

Tabla 14. Determinación de la cantidad de principios activos en muestras para la determinación del promedio de dosis liberada para dosis 50/100.

| # | Nombre de la muestra | Área de Salmeterol | Área de Fluticasona propionato | Contenido de Salmeterol en µg | Contenido de Fluticasona propionato en µg |
|-----------------------------------|----------------------|--------------------|--------------------------------|-------------------------------|---|
| 1 | Dis. 1 DUSA INICIO 1 | 0.2834 | 0.7763 | 45.9 | 89.9 |
| 2 | Dis. 1 DUSA INICIO 2 | 0.2768 | 0.7932 | 44.8 | 91.9 |
| 3 | Dis. 1 DUSA INICIO 3 | 0.2957 | 0.8317 | 47.9 | 96.3 |
| 4 | Dis. 1 DUSA MITAD 1 | 0.2916 | 0.8214 | 47.2 | 95.1 |
| 5 | Dis. 1 DUSA MITAD 2 | 0.2676 | 0.7756 | 43.3 | 89.8 |
| 6 | Dis. 1 DUSA MITAD 3 | 0.2777 | 0.8395 | 45.0 | 97.2 |
| 7 | Dis. 1 DUSA MITAD 4 | 0.2827 | 0.7415 | 45.8 | 95.9 |
| 8 | Dis. 1 DUSA FINAL 1 | 0.3205 | 0.7852 | 51.9 | 90.9 |
| 9 | Dis. 1 DUSA FINAL 2 | 0.2671 | 0.7950 | 43.2 | 92.1 |
| 10 | Dis. 1 DUSA FINAL 3 | 0.3296 | 0.8206 | 53.4 | 95.0 |
| 11 | Dis. 2 DUSA MITAD 1 | 0.2857 | 0.8132 | 46.2 | 94.2 |
| 12 | Dis. 2 DUSA MITAD 2 | 0.2809 | 0.8199 | 45.5 | 95.0 |
| 13 | Dis. 2 DUSA MITAD 3 | 0.3035 | 0.8413 | 49.1 | 97.4 |
| 14 | Dis. 2 DUSA MITAD 4 | 0.2763 | 0.8277 | 44.7 | 95.9 |
| 15 | Dis. 3 DUSA FINAL 1 | 0.3039 | 0.7848 | 49.2 | 90.9 |
| 16 | Dis. 3 DUSA FINAL 2 | 0.2747 | 0.7933 | 44.5 | 91.9 |
| 17 | Dis. 3 DUSA FINAL 3 | 0.2975 | 0.8037 | 48.2 | 93.1 |
| Promedio de dosis liberada | | | | 46.8 | 93.1 |

Fuente: Reporte de análisis de control de calidad.

Ejemplo de cálculos:

- **Contenido de Salmeterol en µg:**

$$\frac{0.2834}{0.1593} \times 20.02 \times \frac{99.8\%}{100\%} \times 0.0000375 \times 50 \times 0.6883 \times 1000 = 45.9$$

El valor obtenido se compara con la especificación para salmeterol 50 µg:

| | |
|-----------------------|--------|
| Valor obtenido en µg: | 45.9 |
| Especificación en µg: | 38-52 |
| Conclusión: | Cumple |

- **Contenido de Fluticasona propionato en µg**

$$\frac{0.7763}{1.0756} \times 20.01 \times \frac{99.6\%}{100\%} \times 0.000125 \times 50 \times 1000 = 89.9$$

El valor obtenido se compara con la especificación para fluticasona propionato 100µg:

| | |
|-----------------------|----------|
| Valor obtenido en µg: | 89.9 |
| Especificación en µg: | 79 - 107 |
| Conclusión: | Cumple |

4.3.3 Determinación de la uniformidad de dosis liberada

a. Uniformidad de dosis dentro del dispositivo-Intra inhalador

Determinación: Cuantifique las cantidades de salmeterol y fluticasona propionato en 10 dosis del mismo inhalador (inhalador 1): tres dosis del principio, cuatro dosis de en medio y tres dosis del final y obtenga el promedio como se muestra en la tabla 15.

Tabla 15. Datos para la determinación de la uniformidad de dosis inter-inhalador.

Fuente: propia

| # | Nombre de la muestra | Área de Salmeterol | Área de Fluticasona propionato | Contenido de Salmeterol en µg | Contenido de Fluticasona propionato en µg |
|-----------------|----------------------|--------------------|--------------------------------|-------------------------------|---|
| 1 | Dis. 1 DUSA INICIO 1 | 0.2834 | 0.7763 | 45.9 | 89.9 |
| 2 | Dis. 1 DUSA INICIO 2 | 0.2768 | 0.7932 | 44.8 | 91.9 |
| 3 | Dis. 1 DUSA INICIO 3 | 0.2957 | 0.8317 | 47.9 | 96.3 |
| 4 | Dis. 1 DUSA MITAD 1 | 0.2916 | 0.8214 | 47.2 | 95.1 |
| 5 | Dis. 1 DUSA MITAD 2 | 0.2676 | 0.7756 | 43.3 | 89.8 |
| 6 | Dis. 1 DUSA MITAD 3 | 0.2777 | 0.8395 | 45.0 | 97.2 |
| 7 | Dis. 1 DUSA MITAD 4 | 0.2827 | 0.7415 | 45.8 | 95.9 |
| 8 | Dis. 1 DUSA FINAL 1 | 0.3205 | 0.7852 | 51.9 | 90.9 |
| 9 | Dis. 1 DUSA FINAL 2 | 0.2671 | 0.7950 | 43.2 | 92.1 |
| 10 | Dis. 1 DUSA FINAL 3 | 0.3296 | 0.8206 | 53.4 | 95.0 |
| Promedio | | | | 46.8 | 93.4 |

Calcule la desviación de las cantidades más altas y de las cantidades más pequeñas sobre el promedio de cada uno de los dos principios activos: salmeterol y fluticasona propionato como se muestra en la tabla 16.

Tabla 16 Determinación de la uniformidad de dosis intra inhalador.

| Determinación | Salmeterol | Fluticasona propionato |
|---------------------------------------|------------|------------------------|
| Valor mín, desviación al promedio (%) | -8% | -7% |
| Valor máx, desviación al promedio (%) | 14% | 5% |

Ejemplo de cálculo: Valor mínimo, desviación al promedio (%)

$$100 - \frac{(Mín \times 100)}{Promedio}$$

Donde:

Mín: valor mínimo de los 10 valores evaluados.

Promedio: promedio de los 10 valores evaluados.

$$100 - \frac{(43.2 \times 100)}{46.8} = -7.7$$

b. Uniformidad de dosis entre dispositivos-Inter inhalador

Determinación: Cuantifique las cantidades de salmeterol y fluticasona propionato en 10 dosis de tres inhaladores diferentes (inhaladores 1, 2 y 3): tomando 3 dosis del principio del primer inhalador (inhalador 1), 4 dosis de en medio del segundo inhalador (inhalador 2) y, 3 dosis del final del tercer inhalador (inhalador 3) para los dos activos salmeterol y fluticasona propionato y obtenga el promedio como se muestra en la tabla 17.

Tabla 17. Datos para la determinación de la uniformidad de dosis inter-inhalador.

| # | Nombre de la muestra | Área de Salmeterol | Área de Fluticasona propionato | Contenido de Salmeterol en µg | Contenido de Fluticasona propionato en µg |
|----|----------------------|--------------------|--------------------------------|-------------------------------|---|
| 1 | Dis. 1 DUSA INICIO 1 | 0.2834 | 0.7763 | 45.9 | 89.9 |
| 2 | Dis. 1 DUSA INICIO 2 | 0.2768 | 0.7932 | 44.8 | 91.9 |
| 3 | Dis. 1 DUSA INICIO 3 | 0.2957 | 0.8317 | 47.9 | 96.3 |
| 4 | Dis. 2 DUSA MITAD 1 | 0.2857 | 0.8132 | 46.2 | 94.2 |
| 5 | Dis. 2 DUSA MITAD 2 | 0.2809 | 0.8199 | 45.5 | 95 |
| 6 | Dis. 2 DUSA MITAD 3 | 0.3035 | 0.8413 | 49.1 | 97.4 |
| 7 | Dis. 2 DUSA MITAD 4 | 0.2763 | 0.8277 | 44.7 | 95.9 |
| 8 | Dis. 3 DUSA FINAL 1 | 0.3039 | 0.7848 | 49.2 | 90.9 |
| 9 | Dis. 3 DUSA FINAL 2 | 0.2747 | 0.7933 | 44.5 | 91.9 |
| 10 | Dis. 3 DUSA FINAL 3 | 0.2975 | 0.8037 | 48.2 | 93.1 |
| | | | Promedio | 46.6 | 93.7 |

Calcule la desviación de las cantidades más altas y de las cantidades más pequeñas sobre el promedio de cada uno de los dos principios activos: salmeterol y fluticasona propionato como se muestra en la tabla 18.

Tabla 18. Determinación de la uniformidad de dosis inter inhalador.

| Determinación | Salmeterol | Fluticasona propionato |
|---------------------------------------|-------------------|-------------------------------|
| Valor mín, desviación al promedio (%) | -5% | -4% |
| Valor máx, desviación al promedio (%) | 6% | 4% |

4.3.4 Evaluación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras .

En la tabla 19 se encuentran los áreas obtenidas de los principios activos de salmeterol y fluticasona propionato mediante la técnica analítica de cromatografía líquida de alta resolución para la determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para el primer muestreo del inhalador 1 de dosis 50/100, seguida de ejemplos de la realización de los cálculos.

Tabla 19. Determinación de la concentración de activos en las muestras para la determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras.

| Nombre de la muestra | Área de salmeterol | Área de fluticasona propionato | Contenido de salmeterol en µg | Contenido de fluticasona propionato en µg |
|----------------------|--------------------|--------------------------------|-------------------------------|---|
| Cuello | 0.2764 | 0.9482 | 40.2660 | 98.8276 |
| Preseparador | 0.2936 | 0.6844 | 109.3054 | 182.2945 |
| Cubeta 1 | 0.2930 | 0.9803 | 14.2281 | 34.0577 |
| Cubeta 2 | 0.3958 | 1.7785 | 19.2201 | 61.7889 |
| Cubeta 3 | 0.4061 | 1.7156 | 19.7202 | 59.6037 |
| Cubeta 4 | 0.4670 | 1.0283 | 22.6775 | 35.7254 |
| Cubeta 5 | 0.2841 | 0.3033 | 9.1973 | 7.0249 |
| Cubeta 6 | 0.0409 | 0.0334 | 1.3241 | 0.7735 |
| Cubeta 7 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| MOC | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |

Fuente: Hoja de cálculo realizada por el sitio de recepción

Ejemplo de cálculo:

Contenido de salmeterol en el preseparador en µg (volumen de solvente= 45 mL):

$$\frac{0.2764}{0.1593} \times 20.02 \times \frac{99.8\%}{100\%} \times 0.0000375 \times 45 \times 0.6883 \times 1000 = 40.2660$$

Contenido de fluticasona propionato en el preseparador en µg (volumen de solvente= 45 mL):

$$\frac{0.9482}{1.0756} \times 20.01 \times \frac{99.6\%}{100\%} \times 0.000125 \times 45 \times 1000 = 98.8276$$

En las tablas 20 y 21 se observan los datos necesarios para la obtención de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para los principios activos salmeterol y fluticasona propionato.

Tabla 20. Determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para salmeterol.

| | |
|--|------------------|
| NGI 1 | DISPOSITIVO 1 |
| Activo | Salmeterol |
| Flujo de trabajo | 92 L/min |
| NGI 1. Cuello | 40.2660 µg |
| NGI 1. Preseparador | 109.3054 µg |
| NGI 1. Cubeta 1 | 14.2281 µg |
| NGI 1. Cubeta 2 | 19.2201 µg |
| NGI 1. Cubeta 3 | 19.7202 µg |
| NGI 1. Cubeta 4 | 22.6775 µg |
| NGI 1. Cubeta 5 | 9.1973 µg |
| NGI 1. Cubeta 6 | 1.3241 µg |
| NGI 1. Cubeta 7 | 0.0000 |
| NGI 1. MOC | 0.0000 |
| Número de Dosis | 5 |
| Cantidad de partículas finas <5 µm | 12.821 µg |
| Total en el aparato | 86.3673 µg |
| Dosis liberada NGI | 47.188 |

Tabla 21. Determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para fluticasona propionato.

| | |
|---|------------------------|
| NGI 1 | DISPOSITIVO 1 |
| Activo | Fluticasona propionato |
| Flujo de trabajo | 92 L/min |
| NGI 1. Cuello | 98.8276 µg |
| NGI 1. Preseparador | 182.2945 µg |
| NGI 1. Cubeta 1 | 34.0577 µg |
| NGI 1. Cubeta 2 | 61.7889 µg |
| NGI 1. Cubeta 3 | 59.6037 µg |
| NGI 1. Cubeta 4 | 35.7254 µg |
| NGI 1. Cubeta 5 | 7.0249 µg |
| NGI 1. Cubeta 6 | 0.7735 µg |
| NGI 1. Cubeta 7 | 0.0000 |
| NGI 1. MOC | 0.0000 |
| Número de Dosis | 5 |
| Cantidad de partículas finas <5µm | 27.818 µg |
| Total en el aparato | 198.9741 µg |
| Dosis liberada NGI | 96.019 |

Fuente: Hoja de cálculo realizada por el sitio de recepción

En la tabla 22 se observan los datos necesarios para la determinación de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para el activo salmeterol.

Tabla 22. Determinación de la cantidad de partículas finas menor a 5 micras:

| Cubeta | D50, Qn ^a | X ^a | LOG D50 ^b | % en cada cubeta ^d | % Acumulado | Diámetro límite | Intersección ^c | Ordenada ^c |
|--------|----------------------|----------------|----------------------|-------------------------------|-------------|-----------------|---------------------------|-----------------------|
| 1 | 8.02 | 0.54 | 0.8039 | 16.4739 | 100.0000 | na | | |
| 2 | 4.46 | 0.52 | 0.5528 | 22.2539 | 83.5261 | 0.8039 | 12.28 | 88.63 |
| 3 | 2.82 | 0.5 | 0.3574 | 22.8330 | 61.2722 | 0.5528 | | |
| 4 | 1.66 | 0.47 | 0.1329 | 26.2571 | 38.4392 | 0.3574 | | |
| 5 | 0.94 | 0.53 | -0.1253 | 10.6490 | 12.1821 | 0.1329 | | |
| 6 | 0.55 | 0.6 | -0.3710 | 1.5331 | 1.5331 | -0.1253 | | |
| 7 | 0.34 | 0.67 | -0.5929 | 0.0000 | 0.0000 | -0.3710 | | |

Fuente: Hoja de cálculo realizada por el sitio de recepción

^a Estos valores son teóricos y se toman de la farmacopea europea 8.0 del capítulo para productos inhalables 2.9.18.

^b Determinación del diámetro límite.

^c Valores tomados de la regresión lineal de la figura 27.

^d Se calcula como lo indica el ejemplo de la página 90.

A continuación se encuentra un ejemplo para la realización del cálculo para la determinación del diámetro límite, que se realiza por cada cubeta:

$$\text{LOG D50: LOG } (((60/92)^{0.54}) \times 8.02) = 0.8039$$

Donde:

LOG D50: Diámetro límite.

60: conversión de minutos a segundos

92: flujo de trabajo

0.54: valor teórico farmacopéico.

8.02: valor teórico farmacopéico.

Calcule el % en cada estación dividiendo la cantidad de activo en esa cubeta entre la cantidad de activo en el aparato, por ejemplo para la cubeta 1:

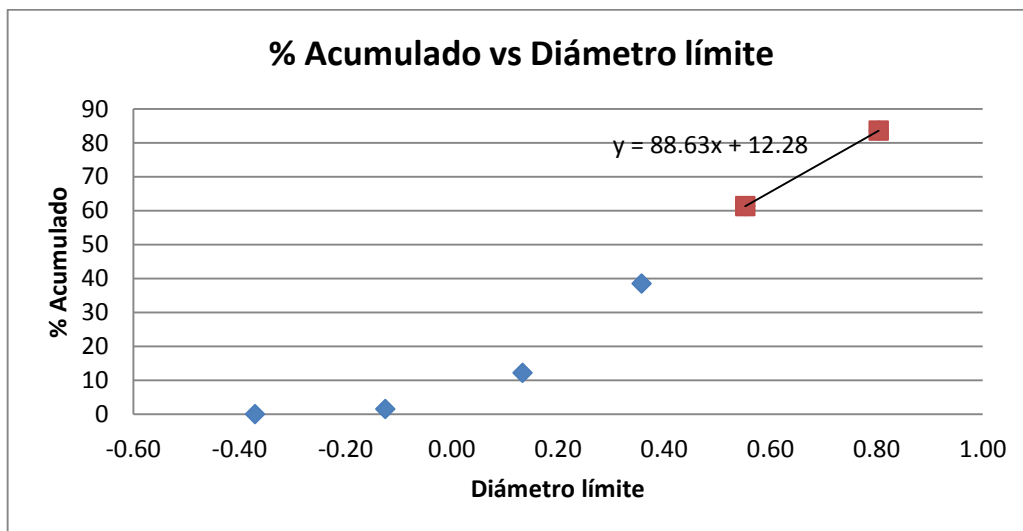
$$\% \text{ Cubeta 1} = \frac{14.2281}{86.3673} \times 100 = 16.4739\%$$

A continuación se encuentra el cálculo para la determinación del % acumulado para el impactador, esto se realiza sumando las cantidades en % por cada cubeta de principio activo que se encuentran en las cubetas desde la cubeta 2 hasta la cubeta 7. La cubeta 1 no se considera debido que el % acumulado para esta cubeta es del 100%. La cubeta del MOC no se considera en el % acumulado debido a que no existe el diámetro límite para esta cubeta.

$$\% \text{ Acumulado: } 1.5331+10.6490+26.2571+22.8330+22.2539=83.5261 \mu\text{g}$$

En la figura 27, se grafican en el eje de las “x” el diámetro límite obtenido en la tabla 22 y en el eje de las “y” el % acumulado obtenido en la tabla 22, desde la cubeta 2 a la cubeta 7 para obtener el valor de la intersección y de la ordenada usada para el cálculo de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para el activo salmeterol.

Figura 27. Gráfico de % acumulado en función del diámetro límite



Fuente: Reporte de análisis del sitio de recepción.

Después de obtener la pendiente y la ordenada de la gráfica, se calcula la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para el activo salmeterol de la siguiente forma:

$$\text{Cantidad menor a } 5 \text{ m} = \frac{((\text{LOG}(5\mu\text{m}) \times 88.63 + 12.28) \times 86.3673 / 100)}{5} = 12.821\mu\text{g}$$

Donde:

5 μm : tamaño de partícula límite (partículas menores a 5 micras)

88.63: ordenada obtenida en la figura 27.

12.28: intersección obtenida en la figura 27.

86.3673: total del principio activo en el aparato, obtenido en la tabla 20.

5: número de disparos realizados durante la prueba para el impactador clase E.

5. Análisis y discusión de resultados

5.1 Adecuabilidad del sistema:

Tabla 23. Análisis de adecuabilidad del sistema.

| # | Parámetro | Principio activo | Condición | Nombre de la inyección | Valores | Resultado | Especificación | Conclusión |
|---|---------------------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|---------|-----------|----------------|------------|
| 1 | Simetría del pico | Salmeterol | Promedio de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 1.401 | 1.4 | Menor a 1.8 | Cumple |
| | | | | Adecuabilidad | 1.330 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.319 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.341 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.364 | | | |
| 2 | Simetría del pico | Fluticasona propionato | Promedio de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 1.237 | 1.2 | Menor a 1.5 | Cumple |
| | | | | Adecuabilidad | 1.191 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.235 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.248 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.239 | | | |
| 3 | Señal ruido | Salmeterol | Promedio de 3 inyecciones | SNS | 35.431 | 32.6 | Mayor a 10 | Cumple |
| | | | | SNS | 38.620 | | | |
| | | | | SNS | 23.874 | | | |
| 4 | Señal ruido | Fluticasona propionato | Promedio de 3 inyecciones | SNS | 21.987 | 21.3 | Mayor a 10 | Cumple |
| | | | | SNS | 16.545 | | | |
| | | | | SNS | 25.332 | | | |
| 5 | Resolución | Salmeterol / Xinafoato | Promedio de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 3.799 | 3.8 | Mayor a 1.6 | Cumple |
| | | | | Adecuabilidad | 3.799 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 3.787 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 3.813 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 3.809 | | | |
| 6 | Desviación estándar relativa del área | Salmeterol | DER de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 0.160 | 0.6 | Menor a 2.0 | Cumple |
| | | | | Adecuabilidad | 0.158 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 0.158 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 0.160 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 0.158 | | | |
| 7 | Desviación estándar relativa del área | Fluticasona propionato | DER de 6 inyecciones | Adecuabilidad | 1.072 | 1.1 | Menor a 2.0 | Cumple |
| | | | | Adecuabilidad | 1.044 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.072 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.063 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.074 | | | |
| | | | | Adecuabilidad | 1.073 | | | |

En la tabla 23 se muestran los valores obtenidos en el sitio de recepción y los criterios de aceptación establecidos en el protocolo por parte del sitio de

transferencia encontrándose que todos los valores obtenidos en el sitio de recepción por el químico analista entrenado cumplen con los criterios establecidos.

5.2 Promedio de dosis liberada:

Se verifica que los resultados obtenidos por el químico analista entrenado para la prueba de promedio de dosis liberada, cumplan con los criterios de aceptación establecidos en el protocolo:

Tabla 24. Promedio de dosis liberada

| Dosis | Salmeterol | | Fluticasona propionato | |
|--------------|----------------|-----------|------------------------|-----------|
| | Especificación | Resultado | Especificación | Resultado |
| 50 µg/100 µg | 38-52 | 44.86µg | 79 - 107 | 91.31µg |
| 50 µg/250 µg | | 45.20µg | 198 - 268 | 230.14µg |
| 50 µg/500 µg | | 46.76µg | 395 - 535 | 473.53µg |

Como puede observarse en la tabla 24, los tres resultados obtenidos para el principio activo salmeterol, se encuentran dentro de la especificación 38 µg -52 µg, además, también los tres resultados para el principio activo fluticasona propionato se encuentran dentro de la especificación, por lo que se considera que los resultados obtenidos para el promedio de dosis liberada cumplen con los criterios de aceptación establecidos en el protocolo.

5.2 Uniformidad de dosis liberada

Tabla 25. Uniformidad de dosis liberada

| Dosis | Especificación | Resultado intra inhalador | Resultado inter inhalador |
|--------------|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 50 µg/100 µg | Primer criterio (n=10) 75-125 % | Cumple n=10 | Cumple n=10 |
| 50 µg/250 µg | | Cumple n=10 | Cumple n=10 |
| 50 µg/500 µg | Segundo criterio (n=30) 65-135 % | Cumple n=10 | Cumple n=10 |

Para el caso de la uniformidad de dosis liberada, el criterio de aceptación establecido en el protocolo, es igual para los dos principios activos, como podemos observar en la tabla 25, los resultados obtenidos en los tres lotes, cumplen en el primer criterio, lo que indica que los resultados obtenidos, se encuentran con los diez valores determinados dentro del rango de 75%-125%, por lo que se considera

que la uniformidad de dosis liberada cumple dentro del mismo inhalador como en inhaladores diferentes.

5.3 Cantidad de partículas finas menores a 5 micras.

Tabla 26. Partículas finas menores a 5 micras.

| Dosis | Salmeterol | | Fluticasona propionato | |
|--------------|----------------|-----------|------------------------|-----------|
| | Especificación | Resultado | Especificación | Resultado |
| 50 µg/100 µg | 5-15 | 10.93µg | 17-30 | 22.06µg |
| 50 µg/250 µg | | 7.63µg | 45-75 | 39.23µg |
| 50 µg/500 µg | | 8.93µg | 100-150 | 88.47µg |

Como puede observarse en la tabla 26, los resultados obtenidos para los dos principios activos se encuentran dentro de especificación por lo que se considera que se cumple con los criterios de aceptación establecidos en el protocolo.

5.4 Transferencia de la metodología analítica.

Tabla 27. Criterios de aceptación para la TMA.

| Determinación | Parámetro | Criterio de aceptación. | Resultado |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------------|-----------|
| Partículas finas menores a 5 micras | Presición inter-lab | $\Delta \leq 20\%$ | Cumple |
| | Presición intra-lab | $RSD \leq 20\%$ | Cumple |
| Uniformidad de dosis liberada. | Presición inter-lab | $\Delta \leq 10\%$ | Cumple |
| | Presición intra-lab | $RSD \leq 10\%$ | Cumple |

Además del cumplimiento de todos los resultados respecto a la especificación, también se requirió que el sitio de transferencia cumpliera con dos criterios adicionales, con los cuales, se asegura que el análisis realizado en el sitio de recepción sea congruente respecto a los resultados obtenidos de los mismos lotes en el sitio de transferencia. Como puede observarse en la tabla 27, estos dos criterios definen la variación de los resultados dentro del laboratorio del sitio de recepción y también, la variación entre el sitio de recepción el sitio de transferencia, el sitio de recepción cumple con ambos criterios, por lo que se puede considerar que todos los resultados obtenidos cumplen con los criterios establecidos en el protocolo para la aprobación de la transferencia del método analítico.

Tabla 28. Resumen de resultados de la TMA para las pruebas del promedio de dosis liberada, uniformidad de contenido por uniformidad de dosis liberada y la cantidad de partículas finas menores a 5 micras.

| Parámetro y criterio de aceptación. | Sitio de transferencia | | Sitio receptor | | Comparación Δ | |
|---|------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| | Salmeterol | Fluticasona | Salmeterol | Fluticasona | Salmeterol | Fluticasona |
| Tamaño de partícula fina (Usando NGI-E) | | | | | | |
| Lote 50/100 | | | | | | |
| Tamaño de partícula fina ($\Delta \leq 20\%$) | 10.93 μ g | 22.06 μ g | 12.82 μ g | 27.82 μ g | 9.36% | 15.92% |
| Presición intra-lab (RSD $\leq 20\%$) | 9.70% | 8.10% | 3.80% | 5.10% | na | na |
| Lote 50/250 | | | | | | |
| Tamaño de partícula fina ($\Delta \leq 20\%$) | 7.63 μ g | 39.23 μ g | 8.58 μ g | 44.79 μ g | 12.43% | 14.16% |
| Presición intra-lab (RSD $\leq 20\%$) | 10.00% | 8.50% | 8.60% | 6.90% | na | na |
| Lote 50/500 | | | | | | |
| Tamaño de partícula fina ($\Delta \leq 20\%$) | 8.93 μ g | 88.47 μ g | 9.65 μ g | 96.98 μ g | 8.05% | 9.61% |
| Presición intra-lab (RSD $\leq 20\%$) | 2.10% | 2.60% | 7.40% | 9.60% | na | na |
| Uniformidad de dosis liberada. | Salmeterol | Fluticasona | Salmeterol | Fluticasona | Salmeterol | Fluticasona |
| Lote 50/100 | | | | | | |
| Uniformidad de dosis ($\Delta \leq 10\%$) | 44.86 μ g | 91.31 μ g | 46.80 μ g | 93.08 μ g | 4.33% | 1.94% |
| Presición intra-lab (RSD $\leq 10\%$) | 8.10% | 5.50% | 6.10% | 3.30% | na | na |
| Lote 50/250 | | | | | | |
| Uniformidad de dosis ($\Delta \leq 10\%$) | 45.20 μ g | 230.14 μ g | 46.72 μ g | 230.03 μ g | 3.36% | 0.05% |
| Presición intra-lab (RSD $\leq 10\%$) | 2.10% | 2.60% | 7.40% | 9.60% | na | na |
| Lote 50/500 | | | | | | |
| Uniformidad de dosis ($\Delta \leq 10\%$) | 46.76 μ g | 473.53 μ g | 46.10 μ g | 469.34 μ g | 1.42% | 0.88% |
| Presición intra-lab (RSD $\leq 10\%$) | 6.20% | 3.70% | 3.20% | 2.10% | na | na |

Fuente: reporte de transferencia analítica.

5.6 Análisis de resultados

Después de calcular los diferentes resultados obtenidos durante la revisión de la transferencia analítica de las metodologías para las pruebas del promedio de dosis liberada, la uniformidad de dosis liberada y la cantidad de partículas finas menores a 5 micras para salmeterol y fluticasona propionato, polvo inhalable se puede observar lo siguiente:

Resultados de adecuabilidad del sistema cromatográfico.

Se revisaron diversos parámetros para poder evaluar que el sistema cromatográfico trabajara adecuadamente durante toda la corrida. Es requisito indispensable que todos estos parámetros cumplan con las especificaciones establecidas en la metodología antes de inyectar alguna muestra y también durante la inyección de las muestras, de esta manera se asegura que los resultados obtenidos en las inyecciones de muestras son confiables.

A lo largo de toda la corrida cromatográfica se mide el valor de desviación estándar relativa de los estándares, lo que indica que la variación entre áreas del estándar es consistente y que se pueden cuantificar con confianza las muestras inyectadas en la secuencia. Al final de la secuencia, se evaluó el cumplimiento de la desviación estándar relativa de todos los estándares inyectados durante toda la secuencia así como también se evaluó nuevamente la señal ruido para garantizar que todos los picos, incluyendo los más pequeños se puedan integrar y cuantificar de forma adecuada.

El cumplimiento de la adecuabilidad es indispensable para poder realizar de forma adecuada el análisis de las muestras, sin embargo, los cromatogramas obtenidos son una parte importante de los resultados de las transferencias. Esto se debe a que los cromatogramas son consecuencia directa de la preparación de estándares, preparación de diluentes, preparación de fases móviles e incluso del uso adecuado de las columnas cromatográficas.

Al comparar los cromatogramas obtenidos durante esta transferencia, se puede observar que todos los cromatogramas obtenidos en el sitio receptor se encuentran consistentemente similares y que además, son idénticos a los cromatogramas obtenidos por el sitio de transferencia. La similitud entre los cromatogramas la podemos observar al mirar lo idéntica que se encuentra la línea base en las inyecciones de blanco, desde los picos negativos, hasta los tiempos de retención obtenidos con los activos e incluso, la fase de lavado de columna (entre 11 y 15 minutos).

Resultados de la cantidad de partículas finas menores a 5 micras, de promedio de dosis liberada y de uniformidad de dosis liberada.

Al revisar los resultados contenidos en la Tabla 28, podemos ver como todos los resultados cumplen con los criterios de aceptación establecidos por el sitio de transferencia. Esto es consecuencia de varios factores, como por ejemplo: el método establecido por el sitio de transferencia, se siguió de forma adecuada por el sitio receptor; el método analítico validado por sitio receptor, demuestra ser un método robusto a varios factores, ya que el análisis se llevó a cabo por una laboratorio totalmente diferente, situado en Alemania, usando otros materiales, reactivos, equipos y estándares; y también que el entrenamiento del analista fue efectivo, ya que pudo obtener resultados satisfactorios al realizar el desarrollo de la transferencia.

6. Conclusiones

Los resultados analíticos obtenidos en la transferencia con el sitio receptor cumplen con las especificaciones de forma completa, por lo tanto se da por aprobada la transferencia de las metodologías analíticas y se concluye que el sitio receptor se encuentra en óptimas condiciones para poder realizar el análisis de rutina del producto inhalable en cuestión.

Además de poder realizar estas pruebas como parte del análisis obligatorio para poder liberar el producto al mercado, también se podrá monitorear el cumplimiento de estas pruebas a lo largo de los estudios de estabilidad, lo que nos garantiza que el producto se liberará en la concentración adecuada y que además la cantidad de partículas finas por debajo de las 5 micras será la necesaria para poder ejercer el efecto terapéutico para el cual está destinado durante el tiempo de vida del producto.

La importancia de la aprobación de la Transferencia de la metodología analítica, consiste en hacer posible el análisis de este producto de forma rutinaria en el laboratorio del sitio receptor, esto radica en mencionar que el producto inhalable terminado proviene de Europa y que es sometido a varios procesos para poder llegar a nuestro país, ya que el producto puede llegar por dos vías: aérea o marítima y en ambos casos, las condiciones ambientales a la cuales se somete el producto, puede alcanzar temperaturas y condiciones de humedad elevadas.

El producto inhalable en cuestión, es una formulación de salmeterol xinafoato y fluticasona propionato, que son dos activos que se encuentran adheridos de forma electrostática a la superficie de la lactosa, este excipiente, la lactosa y que es una sustancia hidrofílica, puede modificar su tamaño al adsorber en su superficie partículas de agua y esto puede modificar la cantidad de partículas que se encuentren por debajo de 5 micrómetros, formando conglomerados.

La aprobación de la transferencia de metodología analítica, permite determinar el impacto que generan las temperaturas y condiciones de humedad durante el transporte del producto sobre la uniformidad de contenido y el tamaño de partícula

final y de esta forma verificar que el producto se encuentre en cumplimiento antes de salir al mercado y que los pacientes reciban el tratamiento de forma efectiva ya que desde la liberación por parte del laboratorio, se garantiza que el producto a pesar del trayecto que haya seguido para poder llegar al país, cumple con los requerimientos del usuario final que es el paciente.

7. Bibliografía

1. Fernández, A., y Casan, P. (2012). *Depósito pulmonar de partículas inhaladas*. Archivos de Bronconeumonía, 48(7), 240-46.
2. Bellido, J. (2007). *Asma y tabaco: una unión inconveniente*. Archivos de Bronconeumonía, 43(6), 340-45.
3. Separ, A. (2013). *Concenso SEPAR-ALAT sobre terapia inhalada*. Archivos de bronconeumonía, 49(Suplemento 1), 2-14
4. Sotomayor, E., Várez, A., y Levenfeld, B. (2010). *Influence of powder particle size distribution on rheological properties of 316 L powder injection moulding feedstocks*. Powder Technology, 200 (2010), 30–36
5. GLAXOSMITHKLINE. (2008). Food and Drug Administration. EU: *Benefit Risk Assessment of Salmeterol for the Treatment of Asthma in Adults and Children*. Recuperado de

<https://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/08/briefing/2008-4398b1-04-GSK.pdf>
6. Esteban, G. (2017). Salud al día. Madrid, España: *Revista de salud y bienestar*. Recuperado de <http://www.webconsultas.com/asma/tratamiento-del-asma-2042>
7. Idod. (2013). European Lung Foundation. Inglaterra: *Anatomía y función del pulmón sano*. Recuperado de <http://www.europeanlung.org/en/>
8. Kaft, M. (2017). National Heart, Lung, and Blood Institute. US: *What Is Asthma?* Recuperado de <http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/asthma/>

9. *Farmacopea Europea 8.0, 2014.*

10. *Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica, edición 36, 2013.*

8. Glosario.

- **Aerosolizar:** Acción de convertir un medicamento líquido en una niebla fina que puede ser inhalada.
- **Agonista:** Fármaco o sustancia con capacidad para unirse a un receptor celular y provocar una determinada reacción.
- **Alergeno:** Es una sustancia que puede inducir una reacción de hipersensibilidad.
- **Analito:** Componente cuya presencia o contenido se desea conocer, identificar y cuantificar.
- **Anticolinérgico:** Es un compuesto farmacéutico que sirve para reducir o anular los efectos producidos por la acetilcolina.
- **Antígeno:** Es una sustancia ajena al cuerpo que el sistema inmunológico reconoce como una amenaza.
- **Broncoconstricción:** Es el estrechamiento de las vías aéreas lo cual disminuye o bloquea el flujo de aire.
- **Capa periciliar:** Es un medio acuoso, de baja resistencia, que permite el movimiento de los cilios.
- **Capacidad residual funcional:** Es el volumen de aire contenido en los pulmones al final de una espiración normal.
- **Célula dendrítica:** Tipo especial de célula inmunitaria que se encuentra en los tejidos, como la piel, y estimula las respuestas inmunitarias al presentar en su superficie un antígeno ante las otras células del sistema inmunitario.

Una célula dendrítica es un tipo de fagocito y un tipo de célula presentadora de antígeno.

- **Disnea:** Dificultad respiratoria que se suele traducir en falta de aire.
- **Efecto Bernoulli:** Es el descenso de la presión del líquido en las regiones donde la velocidad del flujo es mayor.
- **Efecto freón-frío:** Detención de la inspiración al impactar el propelente frío en la faringe.
- **Endocitosis:** Es el proceso de incorporación de moléculas al interior celular englobadas por membranas, normalmente vesículas.
- **Exocitosis:** Es un proceso por el cual una célula dirige vesículas secretoras fuera de la membrana celular.
- **Flujo crítico:** Flujo que permite que la velocidad de flujo permanezca constante por un lapso de tiempo determinado.
- **Higroscópico:** Sustancia capaz de absorber humedad del medio.
- **Leucotrienos:** Son potentes mediadores de hipersensibilidad inmediata, broncoconstricción, contracción del músculo liso, aumento de la permeabilidad vascular y secreción mucosa epitelial.
- **Movimiento Browniano:** Es el movimiento aleatorio que se observa en algunas partículas microscópicas que se hallan en un medio fluido.

- **Órgano diana:** Es el nombre por el cual se denomina a cualquiera de los órganos que forman el cuerpo humano, cuando estos reaccionan ante cualquier estímulo ya sea interno o externo.
- **Propelente:** Gas utilizado para impulsar las sustancias contenidas en los aerosoles.
- **Sibilancias:** Es el sonido que hace el aire al pasar por las vías respiratorias congestionadas.
- **Solenoides:** Bobina que genera un campo magnético de gran intensidad.
- **Vahos:** Inhalaciones de vapor de agua que ablandan, humedecen y eliminan las mucosidades de la nariz, garganta y bronquios.

9. Acrónimos.

- **CFC:** Clorofluorocarbonos.
- **CLAR:** Cromatografía líquida de alta resolución o HPLC por sus siglas en inglés High Performance Liquid Chromatography.
- **DMMA:** Diámetro de la masa media aerodinámica. Diámetro de una partícula en el aire, asumiendo que esa partícula tiene forma esférica.
- **DUSA:** Aparato de Muestreo de Unidades de Dosificación por sus siglas en inglés Dose Unit Sampling Apparatus.
- **EPOC:** Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
- **HFA:** Hidrofluoroalcanos.
- **ICP:** Inhalador de cartucho presurizado.
- **IPS:** Inhalador de polvo seco.
- **NGI:** Impactador de Próxima Generación por sus siglas en inglés Next Generation Impactor.