



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

*ESTUDIO COMPARATIVO DE PERFILES DE DISOLUCIÓN DE AMLODIPINO BAJO DIFERENTES
CONDICIONES DE DISOLUCIÓN*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

ITZEL BALLESTEROS CRUZ



MÉXICO, D.F.

2015



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: Helgi Helene Jung Cook

VOCAL: Lauro Misael Del Rivero Ramírez

SECRETARIO: Luis Jesús García Aguirre

1er. SUPLENTE: Kenneth Rubio Carrasco

2° SUPLENTE: María de Lourdes Beatriz Mayet Cruz

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

LABORATORIO DE BIOFARMACIA 112

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Helgi Helene Jung Cook

SUPERVISOR TÉCNICO:

María de Lourdes Beatriz Mayet Cruz

SUSTENTANTE:

Itzel Ballesteros Cruz

Agradecimientos

A la Doctora Helgi por el tiempo invertido en este trabajo, por su apoyo, por su asesoría y darme la oportunidad de desarrollar el presente trabajo. También por ser un ejemplo a seguir y una motivación para seguir creciendo.

A la Maestra Lourdes por bríndame su asesoría y aclarar mis dudas durante el desarrollo experimental.

Al Maestro Luis y al Maestro Lauro por invertir su tiempo en realizar correcciones muy acertadas a mi trabajo.

Gracias.

Dedicatorias

A mis padres Olga y Luis por darme su apoyo incondicional en todo momento y ayudarme a tomar decisiones en este camino, si no fuera por ustedes no sería lo que soy ni habría llegado hasta donde estoy. Gracias.

A mis hermanos por apoyarme siempre en todo momento.

A Eduardo Cantú por ser mi compañero, amigo y todo, por comprenderme siempre y soportarme hasta en épocas de exámenes y entregas de reportes, por apoyarme e impulsarme a ser una mejor persona a diario. Te amo.

A mis amigos de primer semestre Laura y Rodrigo porque sé que siempre contare con ustedes, por hacer que la facultad no fuera solo un lugar en el que únicamente se tiene que estudiar, porque siempre me están haciendo reír sobre todo Rodri con sus ocurrencias.

A mis amiguis Mónica, Maripaz, Karen, Ale y Mario, por brindar su apoyo moral y hacer que la estancia en la Facultad fuera muy divertida hasta a la hora de estudiar juntos sobre todo en los departamentales. Gracias

INDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
2	GENERALIDADES	4
2.1	Disolución.....	4
2.1.1	Velocidad de disolución. Modelo de la capa de difusión (teoría de la película)	5
2.1.2	Modelos cinéticos de liberación	7
2.1.3	Comparación de perfiles de disolución	10
2.1.4	Factores que afectan la disolución de un fármaco	11
2.1.5	Descripción de los aparatos de disolución	18
2.2	Bioexención.....	25
2.2.1	Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB)	25
2.3	Validación del método analítico.....	30
2.4	Amlodipino	31
2.4.1	Propiedades fisicoquímicas.	32
2.4.2	Estabilidad	33
2.4.3	Usos terapéuticos	34
2.4.4	Farmacodinamia	35
2.4.5	Farmacocinética	36
2.4.6	Presentaciones farmacéuticas.....	38
2.4.7	Posología.....	38
2.4.8	Interacciones	39
2.4.9	Estudios de disolución	40
3	DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	42
3.1	Instrumentos y equipos:	42

3.2	Material	42
3.3	Reactivos	43
3.4	Productos	43
3.5	Valoración	44
3.5.1	Preparación de fase móvil	44
3.5.2	Preparación de Solución estándar	44
3.5.3	Preparación de la muestra	44
3.5.4	Condiciones cromatográficas para la prueba de valoración	45
3.6	Validación del método analítico para estudios de disolución	46
3.6.1	Validación con el fármaco:	47
3.6.2	Validación con el medicamento:	50
3.7	Perfiles de disolución	53
3.7.1	Preparación del medio de disolución	53
3.7.2	Proceso de desgasificación del medio	53
3.7.3	Condiciones del estudio	54
3.7.4	Metodología	54
3.7.5	Muestreo	55
3.7.6	Cuantificación	55
3.7.7	Comparación de los perfiles de disolución por medio del factor de similitud (f_2).	58
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
4.1	Valoración	59
4.2	Validación del método analítico para los estudios de perfil de disolución	59
4.2.1	Validación con el fármaco	59
4.2.2	Validación con el medicamento	62

4.3	Perfil de disolución	65
4.3.1	Perfiles de Disolución del Lote 1 (1305008)	65
4.3.2	Perfiles de disolución del Lote 2 (1405002).....	67
4.3.3	Perfiles de disolución del Lote 3 (1405003).....	69
4.3.4	Perfiles de disolución del Lote SA1538 de ANGIODAL	72
4.3.5	Comparación de perfiles de disolución obtenidos con una velocidad de agitación de 75 rpm y 500 mL de medio	74
4.3.6	Comparación de perfiles de disolución obtenidos con una velocidad de agitación de 75 rpm y 900 mL de medio	76
4.3.7	Comparación de perfiles de disolución obtenidos con una velocidad de agitación de 100 rpm y 900 mL de medio	79
5	CONCLUSIONES	82
6	Bibliografía.....	83
7	Apéndice A. Perfiles de Disolución	88

Abreviaturas

SCB: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

FDA: Food and Drug Administration.

EMA: European Medicines Agency.

USP: The United States Pharmacopeial.

FEUM: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

CLAR: Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

C_{max}: Concentración plasmática máxima.

T_{max}: tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima.

DOF: Diario Oficial de la Federación.

UV: Ultravioleta.

1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El amlodipino es un fármaco perteneciente al grupo de los bloqueadores de canales de calcio de tipo dihidropiridina, empleado como fármaco de primera elección en la hipertensión arterial y puede usarse en monoterapia en la mayoría de los pacientes. El amlodipino se encuentra dentro del listado de medicamentos esenciales de la OMS. En México el besilato de amlodipino también está dentro del Cuadro Básico de Medicamentos del Sector Salud en presentación de tabletas de 5 mg, la cual es la presentación más utilizada en nuestro país.

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) es una herramienta de referencia para clasificar fármacos, el cual se basa en sus características de solubilidad, permeabilidad y disolución de las formas farmacéuticas, el enfoque del SCB ofrece una oportunidad para la exención de los estudios de bioequivalencia para ciertas categorías de formas farmacéuticas de liberación inmediata.

Entidades internacionales como la FDA (Food and Drug Administration), la EMA (European Medicines Agency) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) han abierto la puerta a la posibilidad de demostrar la bioequivalencia para ciertos medicamentos, mediante ensayos de disolución (*in vitro*) y así evitar la realización de ensayos *in vivo* en humanos y disminuir los costos de desarrollo de los medicamentos. Este proceso se denomina como bioexención y aplica a los fármacos de clase 1 y clase 3.

El amlodipino es una base débil la cual tiene una solubilidad en agua de 0.774 mg/mL a 25 °C⁵. Dado que dosis la más alta es de 10 mg se considera que es un fármaco de alta solubilidad. Con respecto a la permeabilidad, se considera un fármaco de alta permeabilidad. La OMS clasifica al amlodipino como fármaco de clase I por lo tanto es un candidato para la bioexención a través de pruebas de disolución.

Recientemente en el laboratorio de biofarmacia se llevó a cabo un estudio de disolución de tres productos genéricos y el medicamento de referencia (Norvas) conteniendo 5mg de amlodipino, los cuales habían demostrado su bioequivalencia. El estudio se llevó a cabo utilizando el aparato 2 de la USP, 500 mL de medio de disolución una velocidad de agitación de 75 rpm en tres diferentes medios de disolución: 1.2, 4.5 y 6.8. Los resultados mostraron que a pH 1.2 y 4.5 todos los productos tanto genéricos como el de referencia presentaron un perfil de muy rápida disolución, es decir, más del 85% se disolvió en 15 min, pero a pH de 6.8 solo un producto genérico cumplió con dicho criterio. Así mismo, a este pH los productos no cumplieron con el criterio del factor de similitud f_2 al compararlos contra el producto de referencia, por lo que los resultados no concuerdan con los obtenidos *in vivo* en el estudio de bioequivalencia.

Con base en lo anteriormente mencionado, se llevó a cabo el presente trabajo, cuyos objetivos fueron:

Objetivos

Objetivo general

Evaluar los perfiles de disolución de productos conteniendo amlodipino, empleando solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 y las siguientes condiciones de disolución:

- Aparato 2, 500 mL del medio de disolución y una velocidad de agitación de 75 rpm.
- Aparato 2, 900 mL del medio de disolución y una velocidad de agitación de 75 rpm.
- Aparato 1, 900 mL del medio de disolución y una velocidad de agitación de 100 rpm.

con el fin de demostrar una correlación *in vitro in vivo* a dicho pH.

Objetivos particulares

- Determinar el contenido químico de los productos bajo estudio empleando la prueba farmacopeica.
- Validar el método analítico para cuantificar amlodipino en solución amortiguadora pH 6.8.
- Comparar los perfiles de disolución de los productos bajo estudio empleando las diferentes condiciones propuestas.

2 GENERALIDADES

2.1 Disolución¹

La absorción de un fármaco desde una forma de dosificación sólida tras la administración oral depende de la liberación del fármaco del medicamento, la disolución o solubilización del fármaco bajo condiciones fisiológicas y su permeabilidad en el tracto gastrointestinal. Debido a la naturaleza crítica de estos primeros dos pasos, la disolución *in vitro* puede ser relevante a la predicción del rendimiento *in vivo*.

La disolución de un fármaco¹

La disolución de un fármaco es un prerequisite para la absorción y respuesta clínica de la mayoría de los fármacos administrados por vía oral. La liberación *in vitro* de un fármaco a partir de la forma farmacéutica que lo contiene depende de las características fisicoquímicas del fármaco, de los excipientes empleados y de la tecnología utilizada para su fabricación.

Los estudios comparativos de disolución permiten establecer especificaciones de disolución, en el control de calidad para probar la consistencia de fabricación y si está documentada la correlación *in vitro-in vivo*, es posible predecir el comportamiento *in vivo* a través del modelo encontrado, por lo que el perfil de disolución *in vitro* puede ser empleado como un sustituto de bioequivalencia y por consiguiente es posible solicitar la bioexención.

2.1.1 Velocidad de disolución. Modelo de la capa de difusión (teoría de la película)²

En 1897 Noyes y Whitney estudiaron la velocidad de disolución del ácido benzoico y del cloruro de plomo, dos sustancias prácticamente insolubles, por medio de la rotación constante y tomando muestras de la solución para su análisis con intervalos específicos. Para poder examinar sus datos cuantitativamente, desarrollaron una ecuación sobre la base de la segunda Ley de Fick, para describir el fenómeno de la disolución.

$$\frac{dc}{dt} = K(C_s - C_t)$$

donde dc/dt es la velocidad de disolución del fármaco, K es la constante de proporcionalidad o de disolución, C_s es la concentración de saturación (solubilidad máxima), C_t es la concentración al tiempo t y $C_s - C_t$ es el gradiente de concentración. La ecuación anterior sigue una cinética de primer orden.

En sus experimentos Noyes y Whitney mantuvieron un área de superficie constante. sin embargo, dado que esta condición no siempre es aplicable, Brunner y Tolloczko modificaron la ecuación para incorporar el área de superficie S , como una variable separada.

$$\frac{dc}{dt} = k_1 S (C_s - C_t)$$

Para poder explicar el mecanismo de la disolución, en 1940 Nernst propuso la teoría del modelo de película. Bajo la influencia de fuerzas no reactivas o químicas, una partícula sólida sumergida en un líquido es sometida a dos pasos consecutivos:

1. La solución del sólido en la interfase, con la formación de una delgada capa estática o película h alrededor de la partícula conocida como capa estacionaria.
2. La difusión desde esa capa en el límite con la masa del líquido.

El primer paso, la solución es casi instantáneo; el segundo, la difusión, es mucho más lento y por lo tanto es el paso limitante de la velocidad.

Durante el mismo año Brunner empleó la Ley de difusión de Fick y la recientemente propuesta teoría de la película de Nernst, y amplió la ecuación incluyendo el coeficiente de difusión D , el espesor de la capa de difusión estática h y el volumen del medio de disolución v , llegando a

$$\frac{dc}{dt} = k_2 \frac{DS}{vh} (C_s - C_t)$$

La constante de proporcionalidad k_2 se conoce como la constante de la velocidad de disolución intrínseca y es característica de cada compuesto químico.

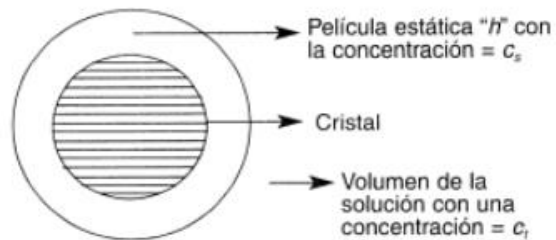


Figura 1. Modelo de la capa de difusión.

La velocidad de disolución se puede simplificar, cuando se trabaja en condiciones sink, entendiéndose como condiciones sink o de sumidero, cuando el volumen del medio de disolución es 5 a 10 veces mayor que el volumen requerido para preparar una solución saturada.

Para simular las condiciones sink que se presentan *in vivo*, las pruebas de disolución *in vitro* en general se llevan a cabo por medio del empleo de un gran volumen de medio de disolución o un mecanismo por el cual el medio de disolución se repone de forma constante con disolvente fresco de modo que la concentración del soluto nunca llega a más del 10 al 15% de solubilidad máxima.

Cuando el estudio se lleva a cabo en condiciones sink: $C_s \gg C_t$, la ecuación se simplifica en:

$$\frac{dc}{dt} = k_2 \frac{DS}{vh} C_s$$

Dado que C_s y D son constantes para cada sustancia química, pueden ser incorporadas en k_2 y aparecer en la ecuación como k_3 .

$$\frac{dc}{dt} = k_3 \frac{S}{vh} C_s$$

2.1.2 Modelos cinéticos de liberación³

Métodos modelo dependiente

Se basan en diferentes funciones matemáticas, que describen el perfil de disolución. Estos métodos incluyen el modelo de cinética de orden cero, primer orden, Higuchi, Hixson - Crowell, Korsmeyer - Peppas, Baker-Lonsdale, Weibull, Hopfenberg, modelos de regresión y de Gompertz. A continuación se describirán brevemente algunos modelos.

Modelo de orden cero.

Una cinética de orden cero es el modelo ideal que debe seguir la liberación de un fármaco si el objetivo es conseguir una actividad constante y prolongada, debido a que se libera durante todo el proceso la misma cantidad de fármaco por unidad de tiempo. Este modelo suele ser adecuado cuando el mecanismo predominante de liberación es relajación y erosión del polímero.

La disolución del fármaco a partir de formas farmacéuticas que se liberan por esta cinética se puede representar por la siguiente ecuación:

$$C_t = C_0 + K_0 t$$

Donde C_t es la cantidad de fármaco disuelto al tiempo t , C_0 es la cantidad inicial de fármaco disuelto (generalmente es igual a 0) y K_0 es la constante de liberación de orden 0 (expresada en unidades de concentración/tiempo).

Modelo de cinética de orden 1.

La liberación del fármaco que sigue una cinética de primer orden puede ser expresada por la siguiente ecuación:

$$\ln C_t = \ln C_0 - K t$$

donde K es la constante de velocidad de primer orden (expresada en unidades de tiempo⁻¹), C_0 es la concentración de fármaco al tiempo 0, y C_t es la concentración de fármaco al tiempo t .

Modelo de Higuchi.

El modelo de Higuchi se emplea en los estudios de liberación de fármacos desde matrices no erosionables, como los hidrogeles. Higuchi describió la liberación como un proceso de difusión simple que sigue la ley de Fick y que depende de la raíz cuadrada del tiempo. El modelo se expresa por la siguiente ecuación:

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = Kh\sqrt{t}$$

Kh corresponde a la constante de liberación de Higuchi, Mt/M_{∞} es la fracción de fármaco liberado al tiempo t.

Este modelo se utiliza con frecuencia, debido principalmente a su simplicidad. De igual manera, al ser un modelo simplista, es difícil obtener conclusiones definitivas sobre el mecanismo de liberación de un fármaco, por lo que interesa ampliar el estudio mediante la aplicación de otros modelos, como los modelos cinéticos de primer orden y de orden cero.

Modelo de Korsmeyer-Peppas.

Deriva una ecuación que describe la liberación de un fármaco a partir de un polímero:

$$Mt / M_{\infty} = Kt^n$$

Donde Mt/M_{∞} es la fracción de fármaco liberada al tiempo t, K es la constante de velocidad de liberación y n es el exponente de liberación.

Esta ecuación nace del intento de explicar mecanismos de liberación de medicamentos donde se presenta erosión o disolución de la matriz.

De acuerdo a la ecuación, el valor de n se relaciona con los diferentes mecanismos de liberación, de la siguiente manera:

-Valores cercanos a 0.5 indican que la liberación sigue un comportamiento Fickiano, siendo la difusión el principal mecanismo implicado. En este caso, el estudio se puede continuar aplicando el modelo de Higuchi.

-Valores de n cercanos a 1 indican que la liberación está controlada por procesos de relajación/erosión del polímero, lo que se denomina transporte “Caso II”. Estos perfiles se ajustan al modelo de cinética de orden cero, por lo que presentan una liberación constante en el tiempo.

-Valores comprendidos entre los dos anteriores son indicativos de un mecanismo más complejo, en el que influyen ambos procesos, difusión y relajación/erosión de la matriz polimérica. Es lo que se denomina un transporte “anómalo”.

-Valores superiores a 1.0 muestran lo que algunos autores denominan transporte tipo Súper Caso II.

2.1.3 Comparación de perfiles de disolución³

Independientemente del modelo matemático seleccionado para el estudio de comparación de los perfiles de disolución realizados bajo condiciones idénticas (temperatura, medio de liberación, forma y resistencia de la matriz, tiempo de toma de muestra), puede utilizarse un factor de diferencia (f_1) y un factor de similitud (f_2) para comparar los perfiles de disolución. El factor de diferencia o f_1 calcula la diferencia porcentual entre dos perfiles en cada punto y es una medida de error relativo entre dos perfiles, se expresa como:

$$f_1 = \left\{ \left[\frac{\sum_{t=l}^n (R(t) - T(t))}{\sum_{t=l}^n R(t)} \right] \right\} \times 100$$

El factor de similitud (f_2) es una transformación logarítmica de la inversa de la raíz cuadrada de la suma del cuadrado de la diferencia entre ambos perfiles, y es una medida de la cercanía de los puntos de ambos perfiles, expresada como:

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^{t=n} [\bar{R}(t) - \bar{T}(t)]^2}{n}}} \right]$$

En ambos factores: n es el número de muestras tomadas, $R(t)$ y $T(t)$ indican el porcentaje de fármaco liberado al tiempo t (tiempo de cada toma de muestra) para el perfil de referencia y para el del ensayo, respectivamente. En una comparación entre dos perfiles, hay que seleccionar uno de ellos como referencia. También es posible tomar como referencia en f_1 la suma de los valores medios entre los perfiles.

Finalmente, los dos perfiles se consideran tanto o más similares cuanto más próximo sea el valor de f_1 a 0, y el valor f_2 a 100. Por lo general, los valores de f_1 de hasta 15 % (0-15) y los valores de f_2 mayores de 50 (50-100) aseguran la igualdad o equivalencia de los dos perfiles.

2.1.4 Factores que afectan la disolución de un fármaco ^{4,5,6}

Existen diferentes factores que influyen en la disolución, siendo los más importantes, los factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco y los relacionados con la forma farmacéutica, entre otras. Los cuales se describen brevemente a continuación.

1. Factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas del fármaco.

Efecto de la solubilidad.

En el diseño de formas farmacéuticas orales, el formulador debe considerar el pH del tracto gastrointestinal ya que en el estómago el pH es ácido y en el intestino es ligeramente básico. Un fármaco básico es más soluble en un medio ácido (el estómago por ejemplo), ya que a ese pH se forma la sal soluble. De lo contrario, un fármaco ácido es más soluble en el intestino, formando la sal soluble a un pH más alcalino. Por lo anterior, la solubilidad de un fármaco se puede mejorar al añadir un excipiente ácido o básico a la formulación del medicamento.

Efecto de la estabilidad.

Si la descomposición del fármaco ocurre por una catálisis ácida o básica, se puede predecir la degradación del fármaco a lo largo del tracto gastrointestinal. Por ejemplo, la eritromicina tiene un perfil de estabilidad dependiente del pH. En medio ácido la descomposición de eritromicina es muy rápida, mientras que en pH neutro o alcalino el fármaco es relativamente estable. Por lo que las tabletas de eritromicina tienen una capa entérica que protege al fármaco de la degradación en el estómago.

Efecto del tamaño de partícula.

El área de superficie aumenta con la disminución del tamaño de las partículas, pueden lograrse velocidades de disolución mayores por medio de la reducción del tamaño de partícula, ya que la disolución se lleva a cabo en la superficie de la partícula (fármaco).

Diversos investigadores han demostrado una mayor velocidad de absorción de la griseofulvina después de la micronización. Se han informado efectos similares con el cloranfenicol, las tetraciclinas, la sulfadiazina y el acetato de noretisterona. No obstante, debe reconocerse que el simple aumento del área de superficie del fármaco no siempre garantiza un aumento equivalente de la velocidad de

disolución. Más bien es el aumento del área superficial efectiva o el área expuesta al medio de disolución.

Efecto del estado cristalino del fármaco sobre la disolución

Se ha demostrado que las características de la fase sólida de los fármacos, como la amorficidad, la cristalinidad, el estado de hidratación y la estructura polimórfica tiene una influencia significativa sobre la velocidad de disolución.

El polimorfismo se refiere a la disposición del fármaco en varias formas de cristales u organismos polimorfos. Los polimorfos tienen una estructura química igual pero diferentes propiedades físicas como solubilidad, densidad, dureza y diferentes características de compresión. Algunos polimorfos tienen una solubilidad más baja en agua que las formas amorfas, causando que el producto no se absorba completamente. Por ejemplo, se ha demostrado que la forma amorfa de la novobiocina tiene una mayor solubilidad y mayor velocidad de disolución que la forma cristalina. Estudios a nivel sanguíneo confirmaron estos datos, la administración de la forma amorfa dio como resultado una concentración 3 a 4 veces mayor que la obtenida con la administración de la forma cristalina.

En general la forma cristalina tiene una energía libre baja y por lo tanto es muy estable. Un fármaco que se encuentra en forma amorfa (no cristalina) generalmente se disuelve más rápido que la estructura rígida cristalina.

Algunos fármacos interaccionan con el disolvente durante la formación del cristal y estos son llamados solvatos. El agua puede formar cristales especiales con el fármaco los cuales son llamados hidratos; por ejemplo el hidrato de eritromicina tiene una solubilidad menor a la de la forma anhidra.

2. Factores relacionados con la forma farmacéutica

Los excipientes se añaden a la formulación para dar ciertas propiedades funcionales al fármaco y su forma farmacéutica. Algunas de esas propiedades funcionales de los excipientes son usadas para dar compresibilidad al fármaco, estabilidad, para disminuir la irritación gástrica, controlar la velocidad y el sitio de absorción, para incrementar la biodisponibilidad, etc.

Efecto de diluyentes y desintegrantes

Uno de los diluyentes más utilizados es el almidón, el cual ha demostrado tener un efecto sobre la velocidad de disolución de comprimidos de ácido salicílico. El aumento del contenido de almidón del 5 al 20% da como resultado un aumento notable en la velocidad de disolución (de casi tres veces), lo cual se atribuye a una desintegración mejor y más completa. Posteriormente se sugirió que los cristales de los fármacos hidrófobos adquieren una capa superficial de finas partículas de almidón que imparte una propiedad hidrófila al preparado y así aumenta la velocidad de disolución.

Efecto de agentes de granulación

En general se ha demostrado que la granulación húmeda mejora la velocidad de disolución de fármacos escasamente solubles por medio de la adjudicación de propiedades hidrófilas a la superficie de los gránulos.

Efecto de los lubricantes

El estearato de magnesio, un lubricante hidrófobo, tiende a retardar la velocidad de disolución de comprimidos, mientras que un lubricante activo de superficie hidrosoluble como el laurilsulfato de sodio incrementa la velocidad de disolución. Los lubricantes hidrófobos como el estearato de magnesio, el estearato de aluminio, el ácido esteárico y el talco reducen el área de interfase efectiva fármaco-disolvente por modificación de las características de superficie de los comprimidos, lo cual da como resultado una disminución de la capacidad de humidificación, la prolongación de su tiempo de desintegración y la reducción del

área de interfase entre el ingrediente activo y el disolvente. Por otro lado, el efecto del laurilsulfato de sodio se debe en parte a un aumento del pH del microambiente que rodea a un ácido débil escasamente soluble y un aumento de la humidificación y mejor penetración del disolvente a los comprimidos y gránulos como resultado de la disminución de la tensión interfacial entre la superficie sólida y el disolvente.

3. Factores relacionados con la manufactura del medicamento.

Fuerza de compresión.

Cuando la fuerza de compresión es mayor, se incrementa la densidad y la dureza de la tableta y disminuye la porosidad. Por lo tanto la penetrabilidad del disolvente en la tableta retarda la humectabilidad de modo que disminuye la velocidad de disolución.

Interacción excipiente-fármaco.

Estas interacciones pueden producirse durante cualquier operación unitaria tales como la mezcla, molienda, secado y/o granulación.

4. Factores relacionados con el aparato de disolución

Agitación.

La relación entre la velocidad de agitación y la velocidad de disolución varía en relación al tipo de agitación utilizado, al grado de flujo laminar o turbulento en el sistema, a la forma y el diseño del agitador y a las propiedades fisicoquímicas del fármaco.

Verticalidad del vástago o flecha.

Una inclinación en el elemento giratorio en exceso de 1.5° puede aumentar las velocidades de disolución de 2 a 25 %.

Verticalidad del vaso.

Se mide en la parte interna y recta de los recipientes, y se toman dos medidas entre sí. Cada uno de los vasos debe estar colocado en su respectivo lugar según su numeración fija establecida.

Lugar de la toma de muestra.

La posición en la que se toma la muestra puede afectar la hidrodinámica del sistema y por lo tanto crear un cambio en la velocidad de agitación. La FEUM indica la posición en la cual se debe tomar la muestra, esta debe ser en la zona central entre la superficie del medio de disolución y la parte superior de la hoja de la canastilla o la parte superior de la hoja de la paleta y a menos de 1.0 cm de la pared del vaso.

Nivelación de la placa de soporte de los vasos.

Se debe medir en el centro de la placa, en al menos dos direcciones perpendiculares entre sí, esta medición se realiza con un nivel digital o analógico calibrados.

Altura del elemento de agitación.

Se fija una distancia entre en fondo interior del vaso y la parte inferior del elemento de agitación, para esto se utiliza un calibrador de altura digital o analógico calibrado.

Vibración a 100 rpm.

Se mide en tres posiciones sobre la placa de soporte de los vasos. La mesa y el aparato de disolución deben estar alejados de otros dispositivos tales como campanas de extracción agitadores, ventiladores, corrientes de aire. Alto tráfico de personas u otros elementos que favorezcan la presencia d vibraciones.

5. Factores relacionados con la prueba de disolución

Temperatura del medio.

La solubilidad del fármaco es dependiente de la temperatura, ya que generalmente a mayor temperatura mayor es la solubilidad de un fármaco, por lo tanto es muy importante mantener la temperatura durante toda la prueba. Además se debe cuidar el nivel de agua en el baño, ya que este debe estar a la altura del medio de disolución en los vasos para asegurar una temperatura homogénea.

Medio de disolución.

Es un factor importante que afecta la prueba de disolución y a su vez es afectado por varios factores como:

-pH. Los ácidos débiles aumentan su velocidad de disolución al aumentar el pH, mientras que para las bases débiles el aumento de la velocidad de disolución se logra con la disminución del pH, esto es debido a que el fármaco se encontrará en su forma ionizada.

-Volumen. Con el fin de minimizar el efecto del gradiente de concentración, se debe asegurar que durante la prueba, el fármaco se encuentre en condiciones sink. Es bien sabido la evaporación puede producirse a partir de los medios a 37°C en la atmósfera, por lo que se deben mantenerse cerrados los vasos de disolución durante la prueba para evitar pérdidas de volumen.

-Gases disueltos. Todos los líquidos están en equilibrio al interactuar con el gas circundante. El gas disuelto puede afectar el pH del medio y por lo tanto afectar la velocidad de disolución de los fármacos que son sensibles a los cambios de pH, además los gases disueltos se pueden liberar en forma de burbujas que pueden alterar el flujo, además de acumularse en la superficie de las formas farmacéuticas actuando de este modo como una barrera hidrófoba entre la interfase del medio de disolución y el medicamento.

2.1.5 Descripción de los aparatos de disolución ⁴

Tanto la USP como la FEUM establecen 7 aparatos de disolución, los cuales tienen diferentes características:

- Aparato 1 (Aparato con Canastilla)
- Aparato 2 (Aparato con Paleta)
- Aparato 3 (Cilindro Oscilante)
- Aparato 4 (Celda de Flujo continuo)
- Aparato 5 (Paleta sobre disco)
- Aparato 6 (Cilindro giratorio)
- Aparato 7 (Disco reciprocante)

La prueba de disolución farmacopeica de las formas farmacéuticas sólidas y algunas semisólidas se realiza en su mayoría con los aparatos 1 y 2 USP (canastillas y paletas, respectivamente). Los procedimientos empleados en estos equipos han sido estandarizados mundialmente y el entorno hidrodinámico que generan sobre las formas farmacéuticas continúa siendo materia de estudio por diversos autores. Estos aparatos deben ser calibrados (mecánica y químicamente) antes de ser usados por medio de dos tipos de calibradores recomendados por la USP, un tipo desintegrante (prednisona) y un tipo no desintegrante (ácido salicílico).

Debido a que en el presente estudio se emplearon los aparatos 1 y 2 de disolución, estos se describirán con mayor detalle.

2.1.5.1 Aparato 1⁴

Descripción

Consta de un baño de agua o en su caso chaquetas de calentamiento y de seis unidades de prueba, donde cada una está constituida por:

- Un vaso cilíndrico de fondo semiesférico, con tapa.
- Un eje transmisor
- Un regulador de velocidad de rotación
- Una canastilla

La distancia entre el fondo del vaso y el fondo de la canastilla, debe mantenerse constante a 25 ± 2.0 mm durante la prueba (figura 2).

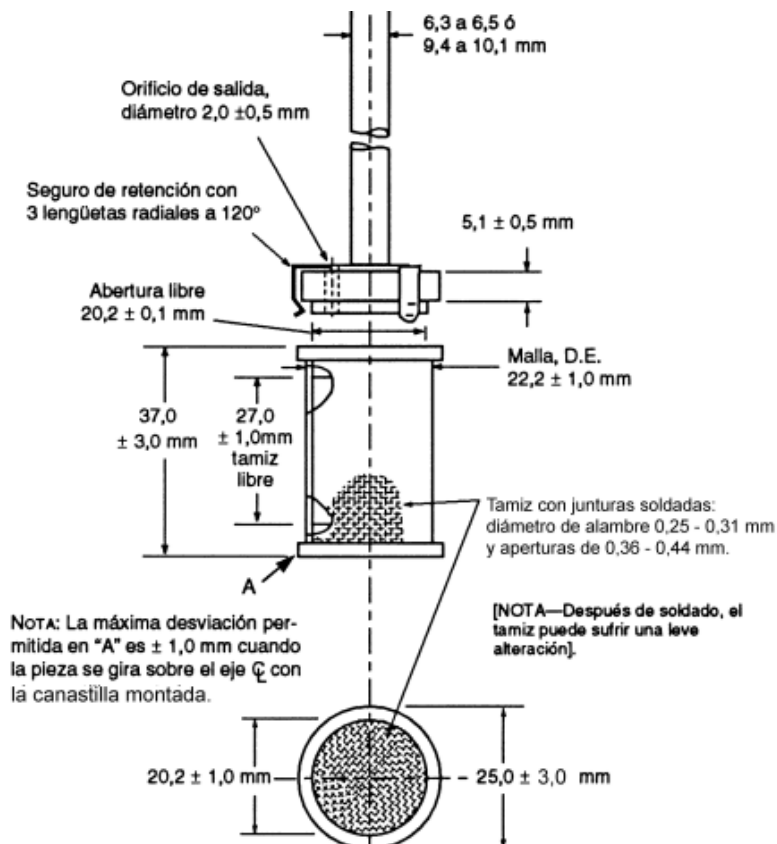


Figura 2. Canasta del aparato 1.

Hidrodinámia.^{7, 8}

La hidrodinamia de este aparato es compleja. El flujo dentro de la canastilla entra axialmente en la base, fluye hacia arriba y sale por los lados, se presentan velocidades axiales tanto ascendentes como descendentes lo que implica que una forma farmacéutica que tiende a flotar está sujeta a velocidades variables dentro de ella. Existe un alto cizallamiento o cortadura en las proximidades de la canasta lo que provoca una expulsión de las partículas desintegradas a través de la malla (efecto tamizado) las cuales tienden a depositarse en el fondo del vaso.

A lo largo del vaso de disolución del aparato 1 existe una diferencia en el flujo hidrodinámico, ya que en la parte inferior del recipiente es significativamente menor que el presente en la canasta. Esta diferencia afecta significativamente los resultados de la disolución dependiendo de si el producto se encuentra dentro o fuera de la canastilla.

Ventajas

Existen varias ventajas asociadas a este aparato. La forma farmacéutica se mantiene confinada en un área limitada, cuenta con calibradores, es útil para tabletas o cápsulas que tienden a flotar y tiene poca interferencia mecánica.

Desventajas

Existen algunas desventajas asociadas al aparato de disolución 1 USP, incluyendo una insuficiencia para agitar uniformemente a una baja velocidad, la obstrucción de las aberturas de la malla por partículas de fármaco o excipiente y obstaculizar la inspección visual del proceso de desintegración, además el material puede ser atacado por ácido clorhídrico.

2.1.5.2 APARATO 2 ⁴

Descripción

Tiene los mismos componentes que el aparato 1, excepto que en lugar del eje de una canastilla, se emplea una pieza denominada paleta o propela (figura 3).

Durante la prueba se debe mantener una distancia de $25 \text{ mm} \pm 2.0 \text{ mm}$ entre la orilla inferior de la propela y el fondo del vaso.



Figura 3. Disolutor, aparato 2 USP.

Hidrodinamia^{9,10,11,12,13}

El aparato 2 USP es el dispositivo más utilizado por la industria farmacéutica para realizar pruebas de disolución. A pesar de su gran uso, la disolución es susceptible a errores significativos en las pruebas, la hidrodinamia de este aparato ha demostrado ser no uniforme con un potencial para producir variabilidad afectando significativamente la disolución del fármaco, por lo que los resultados pueden ser atribuibles a las diferencias no sólo en las formas farmacéuticas que se están probando, sino también a la variabilidad asociada con el dispositivo de prueba.

Se ha revelado que los problemas presentados pueden deberse a zonas muertas presentes en el vaso de disolución y a la mezcla de velocidades bajas y altas entre la parte superior e inferior del vaso.

El flujo en el aparato está dominado fuertemente por el componente tangencial de la velocidad. Flujos secundarios consisten en un bucle de recirculación superior e inferior en el plano vertical por encima y por debajo de la paleta respectivamente. Existe una zona de baja recirculación en la parte inferior del recipiente (parte inferior semiesférica). Las velocidades radiales y axiales en la región justo por debajo de la paleta son muy pequeñas. Esta es la región más crítica del aparato ya que en este lugar se lleva a cabo la disolución de la tableta. Las velocidades en esta región cambian significativamente a distancias cortas a lo largo de la parte inferior del vaso. Esto implica que pequeñas variaciones en la ubicación de la tableta en el fondo del recipiente causada por la aleatoriedad del descenso a través del medio de disolución es probable que resulte en una diferencia significativa en las velocidades de disolución introduciendo variabilidad en la prueba.

Scholz et al¹³ mostraron que el aparato de paletas se puede utilizar para simular las variaciones en la hidrodinamia en el tracto gastrointestinal superior siempre que se utilice una velocidad de agitación adecuada. Utilizando polvo micronizado y grueso de felodipino llegaron a la conclusión de que para tener una adecuada

correlación *in vivo in vitro* se debe utilizar una velocidad de agitación de 75 y 125 rpm, que simularían las condiciones hidrodinámicas en estado de ayuno y en presencia de alimentos.

Ventajas

El aparato 2 tiene diversas ventajas tales como: el material de las paletas inerte, por lo que no presenta problemas de interferencia en métodos analíticos, presenta una buena inspección visual, cuenta con calibradores y presenta poca interferencia mecánica.

Desventajas

Presenta una distribución no uniforme del fármaco a bajas velocidades, el centrado, la alineación y curvatura de los vasos afectan grandemente los resultados, las capsulas o tabletas tienden a flotar, la velocidad de agitación puede formar un cono de material en el fondo del vaso, lo cual afecta los resultados (vasos peak) y es sensible a los gases disueltos en el medio.

2.1.5.3 Equivalencia entre el aparato 1 y 2⁸

El flujo hidrodinámico varía dependiendo del aparato de disolución que se utilice, la velocidad de agitación y la ubicación de la tableta en el vaso de disolución.

Moreira et al⁸ realizó estudios sobre el flujo hidrodinámico del aparato 1 utilizando tabletas de prednisona (calibrador USP desintegrante) y tabletas de liberación sostenida de acetaminofén (no desintegrante). Se encontró que las tabletas de acetaminofén las cuales no se desintegran (permanecen dentro de la canastilla cuando se utiliza el aparato 1), tienen características de disolución muy similares cuando se realiza por el método de paletas y cuando se realiza por el método de canastas a la misma velocidad. Por otra parte las tabletas de prednisona tienen una disolución más lenta cuando se utiliza el método de canastas que cuando se

utiliza el método de paletas tal y como se observa en la figura 4, cuando se utiliza el método de canastas la tableta se desintegra rápidamente y las partículas atraviesan la malla y se depositan en el fondo del vaso de disolución y esto podría ser el motivo por el cual la disolución es más lenta ya que el flujo hidrodinámico es menor debajo de la canastilla que debajo de la paleta.

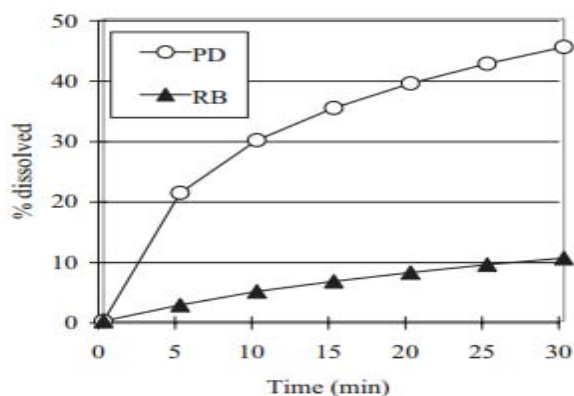


Figura 4. Perfil de disolución de tabletas de prednisona desintegrables utilizando PD (paletas) y RB (canastillas) a 50rpm⁸

La diferencia entre el flujo hidrodinámico que hay entre el fondo del vaso y la canastilla del aparato 1 afecta el comportamiento de los productos farmacéuticos dependiendo si se retienen o no en la canastilla durante la prueba. Por lo que el flujo hidrodinámico varía con el aparato, la velocidad de rotación utilizada, y la ubicación de la tableta en el vaso.

Actualmente, la prueba de paletas a 50 rpm y la prueba de canastillas a 100 rpm se emplean ampliamente por la USP. Estas pruebas pueden intercambiarse para los productos que se desintegran rápidamente, ya que producen flujo hidrodinámico muy similar en la parte inferior de vaso de disolución. Sin embargo, para productos que no se desintegran y permanecen en canastilla por un período largo, la equivalencia no aplica. A la misma velocidad, las velocidades dentro de la canasta son similares en magnitud a los de la base del recipiente del aparato de paletas, aunque ligeramente inferior.

2.2 Bioexención

El término bioexención se aplica a un proceso de aprobación de la reglamentación farmacéutica, donde la parte de eficacia y la seguridad se aprueba con evidencia de equivalencia que no sea a través de las pruebas *in vivo* (bioequivalencia). La bioexención está basada en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB).

2.2.1 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB)¹⁴

Es un marco científico para clasificar las sustancias medicamentosas en base a su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal. Cuando se combina con la disolución del producto medicamentoso, el SCB toma en cuenta tres factores principales que gobiernan la velocidad y el grado de absorción de un fármaco a partir de formas farmacéuticas orales sólidas de liberación inmediata: disolución, solubilidad y permeabilidad intestinal. De acuerdo al SCB, las sustancias medicamentosas se clasifican de la siguiente manera:

Clase 1: Alta solubilidad - Alta permeabilidad

Clase 2: Baja solubilidad - Alta permeabilidad

Clase 3: Alta solubilidad - Baja permeabilidad

Clase 4: Baja solubilidad - Baja permeabilidad

Para el sistema de clasificación Biofarmacéutico, se considera como:

Alta Solubilidad. Un fármaco se considera altamente soluble cuando la dosis más alta es soluble en 250 ml o menos de medio acuoso en el rango de pH 1-6.8. El cálculo de volumen de 250 ml se deriva de protocolos de estudios de bioequivalencia típicos que prescriben la administración de un producto medicamentoso a voluntarios humanos en ayuno con un vaso de agua.

Alta Permeabilidad. Ante la ausencia de evidencia que sugiera inestabilidad en el sistema gastrointestinal, se considera que un fármaco es altamente permeable, según la FDA, cuando el grado de absorción en el ser humano es del 85% o más de una dosis administrada en base a una determinación de balance de masa (junto con la evidencia que muestra la estabilidad del fármaco en el tracto GI) o en comparación con una dosis de referencia intravenosa.

La medición se basa indirectamente en el grado de absorción de una sustancia medicamentosa en el hombre y directamente en mediciones de la velocidad de transferencia de masa por la membrana intestinal humana. Como alternativa, se puede usar sistemas no humanos capaces de predecir la medida de absorción del fármaco en el hombre (métodos de cultivo de células epiteliales *in vitro*).

Disolución

Un fármaco se considera de disolución rápida cuando el 85 por ciento o más de la cantidad declarada de fármaco se disuelve dentro de 30 minutos.

Un fármaco se considera de muy rápida disolución cuando el 85 por ciento o más del fármaco se disuelve dentro de 15 minutos.

Consideraciones

-Profármacos. Cuando se muestra que la conversión del profármaco a fármaco se realiza predominantemente después de la permeación de la membrana intestinal, debe medirse la permeabilidad del profármaco. Cuando la conversión se lleva a cabo antes de la permeación intestinal, se debe determinar la permeabilidad del fármaco.

-Excepciones.

El sistema de clasificación biofarmacéutica no aplica en los siguientes casos:

1. Fármacos con estrecho marco terapéutico.
2. Productos diseñados para ser absorbidos en la cavidad oral.

Existen diferentes entidades regulatorias en el mundo que aprueban la bioexención bajo sus diferentes criterios, entre ellas, la FDA (Food and Drug Administration), la OMS (Organización Mundial de la Salud) y la EMA (European Medicines Agency). A continuación se mostraran los diferentes criterios que aplica cada entidad para que un fármaco sea candidato a una bioexención.

1. FDA¹⁴

Bioexención. Aplica para fármacos de clase 1 y clase 3 con forma farmacéuticas orales solidas de liberación inmediata.

Para fármacos de clase 1, se debe demostrar lo siguiente:

- El fármaco es altamente soluble
- El fármaco es altamente permeable
- El fármaco (de prueba y de referencia) es de disolución rápida y
- El producto no contiene cualquiera de los excipientes que afectan lavelocidad de absorción del fármaco, por ejemplo, agentes tensoactivos (polisorbatos) y edulcorantes (sorbitol o manitol).

Para fármacos de clase 3 se debe demostrar lo siguiente:

- El fármaco es altamente soluble
- El fármaco (producto de referencia) es de muy rápida disolución y
- La formulación del producto de prueba es cualitativamente muy similar al producto de referencia, esto es debido a que los excipientes pueden tener un mayor impacto en la baja permeabilidad del fármaco. La composición del producto de prueba debe ser cualitativamente la misma y cuantitativamente muy similar al producto de referencia.

Condiciones de Disolución. Aparato I a 100 rpm (o aparato II a 50 rpm o a 75 rpm cuando se justifica adecuadamente) en un volumen de 500 mL en cada uno de los siguientes medios: de HCl 0.1 N o fluido gástrico Simulado USP sin enzimas;

solución amortiguadora de pH 4,5; y solución amortiguadora de pH 6,8 o fluido intestinal simulado USP sin enzimas.

2. OMS¹⁵

Bioexención. Aplica para fármacos de clase 1 y clase 3 con forma farmacéuticas orales solidas de liberación inmediata.

Para fármacos de clase 1 se debe demostrar:

- El producto de prueba y de referencia deben presentar rápida disolución
- Tanto el producto de prueba como el de referencia deben contener cantidades similares de los mismos excipientes. Pueden afectar la biodisponibilidad el manitol, sorbitol y agentes tensoactivos, los cuales se deben utilizar con cuidado y si están presentes no deben diferir ni cualitativamente ni cuantitativamente.

Para fármacos de clase 3 se debe demostrar:

- Los productos de prueba y de referencia deben presentar muy rápida disolución
- Los excipientes deben ser cualitativamente los mismos y cuantitativamente similares a las del producto de referencia, excepto los excipientes que se sabe pueden afectar la biodisponibilidad (manitol, sorbitol y agentes tensoactivos) los cuales no deben diferir ni cuantitativamente ni cualitativamente. Además productos que contienen isoniazida, lactosa y/u otros azúcares reductores no deben ser incluidos en la formulación del medicamento de prueba a menos que se encuentren en la misma cantidad que el innovador.

Condiciones de disolución. Aparato de paletas a 75 rpm o aparato de canastas a 100 rpm utilizando 900 mL de los siguientes medios: pH 1.2, 4.5 y 6.8 a 37 °C. No se deben utilizar surfactantes.

3. EMA¹⁶

Bioexención. Aplica para fármacos de clase 1 y clase 3 con forma farmacéuticas orales solidas de liberación inmediata.

Para fármacos de clase 1 se debe demostrar:

- Que el medicamento de prueba y de referencia son de muy rápida disolución o con características de rapidez similares (85% en 30 min).
- Que los excipientes que pueden afectar la biodisponibilidad son cualitativamente y cuantitativamente iguales, en general se prefiere el uso de los mismos excipientes en cantidades similares.

Para fármacos de clase 3 se debe demostrar:

- Que la disolución del medicamento de referencia y de prueba *in vitro* es muy rápida.
- Los excipientes que pueden afectar la biodisponibilidad son cualitativamente y cuantitativamente los mismos y otros excipientes son cuantitativamente y cualitativamente iguales.

En general los excipientes que puedan afectar a la biodisponibilidad, como por ejemplo, sorbitol, manitol, lauril sulfato de sodio u otros surfactantes, deben ser identificados, así como su posible impacto en:

- Motilidad gastrointestinal
- Susceptibilidad a interacciones con el fármaco (formación de complejos)
- Permeabilidad del fármaco
- Interacción con los transportadores de membrana.

Condiciones de disolución. Aparato de paletas a 50 rpm o canastas a 100 rpm utilizando 900 mL o menos de los siguientes medios: solución amortiguadora pH 1.0-1.2 (usualmente 0.1 N HCl o fluido gástrico simulado sin enzimas), pH 4.5 y pH 6.8 (o fluido intestinal simulado sin enzimas). El pH debe garantizarse durante

la prueba. No debe utilizarse surfactante, en caso de utilizar capsulas de gelatina dura o tabletas con recubrimiento de gelatina se pueden utilizar enzimas.

2.3 Validación del método analítico ¹⁷

Se entiende como validación a la evidencia experimental documentada de que un procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado. La validación de un método analítico para perfiles de disolución incluye diferentes parámetros a evaluar, lo cuales están indicados en la NOM-177- SSA1-2013 junto con sus diferentes criterios de aceptación.

La validación se divide en dos, validación con el fármaco y validación con el medicamento. La validación con el fármaco evalúa linealidad, precisión, estabilidad de la muestra e influencia del filtro y la validación con el medicamento evalúa linealidad, exactitud, precisión (como repetibilidad y reproducibilidad) y selectividad.

Linealidad. Capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener una respuesta proporcional a la concentración del compuesto en la muestra.

Precisión. Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea; se evalúa como repetibilidad y reproducibilidad.

Repetibilidad. Precisión bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo. Expresa la variación de un mismo laboratorio, obtenida de determinaciones independientes y realizadas en las mismas condiciones

Reproducibilidad. Es la precisión de un método analítico que expresa la variación de un mismo laboratorio, obtenida de determinaciones independientes realizadas

en el mismo laboratorio, pero diferentes condiciones de análisis, tales como día, equipos y analista.

Exactitud: Es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.

Estabilidad. Capacidad de un fármaco, biofármaco o un medicamento de permanecer dentro de las especificaciones de calidad establecidas.

2.4 Amlodipino^{18,19,20,21}

Amlodipino es una dihidropiridina antagonista de los canales del calcio. El amlodipino tiene diferentes formas salinas farmacéuticamente aceptables, entre las cuales se encuentran el clorhidrato, hidrobromuro, sulfato, fosfato o fosfato ácido, acetato, maleato, mesilato, fumarato, lactato, tartrato, citrato y gluconato. Actualmente la sal más utilizada es la de bencenosulfonato o besilato ya que se ha encontrado que presenta varias ventajas sobre las sales conocidas de amlodipino, entre ellas, tiene una combinación única de buenas propiedades de formulación, entre ellas tener buena compresibilidad y no adherirse a los punzones de la tableteadora, además de ser la más estable.

El amlodipino aparece en la lista de medicamentos esenciales de la OMS como medicamento antihipertensivo en tabletas de 5 mg, puede utilizarse como sal de maleato, mesilato o besilato. De igual forma, en México amlodipino se encuentra en el Cuadro Básico de Medicamentos del Sector Salud como tabletas de 5 mg.

El Amlodipino se ha clasificado como un fármaco de clase 1 (alta solubilidad y alta permeabilidad, ya que dentro de la gama de pH gastrointestinal, el compuesto está ionizado), la solubilidad de besilato de amlodipino disminuye conforme el pH aumenta, siendo de 0.38 mg/mL \pm 0.017, 0.31 mg/mL \pm 0.005 y 0.11mg/mL \pm 0.002 en pH 1.2, pH 4.5 y pH 6.8, respectivamente. Se considera de alta

permeabilidad ya que aun cuando su biodisponibilidad absoluta es del 60-65%, la excreción de los metabolitos en la orina es del 90-95 %.

En el diario oficial de la federación (DOF) se establece que para las tabletas de amlodipino es necesario realizar pruebas de bioequivalencia (prueba c) para demostrar la intercambiabilidad.

2.4.1 Propiedades fisicoquímicas.

Estructura Química.

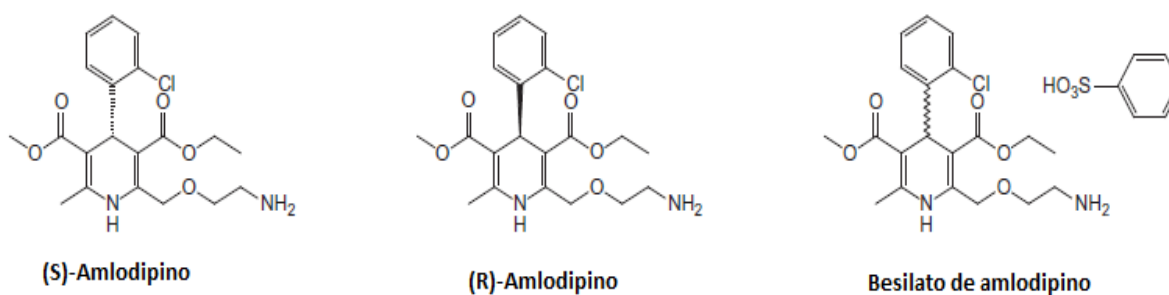


Figura 5. Estructura química de besilato de amlodipino.

Apariencia

Solido blanco o casi blanco

Constante de disociación

pKa=8.7²²

Peso molecular

Amlodipino (C₂₀H₂₅ClN₂O₅): 408.88 g/mol

Besilato de Amlodipino (C₂₀H₂₅ClN₂O₅ C₆H₆O₃S): 567.05 g/mol

Solubilidad

Disminuye conforme el pH aumenta, siendo de 0.38 mg/mL \pm 0.017, 0.31 mg/mL \pm 0.005 y 0.11mg/mL \pm 0.002 en pH 1.2, pH 4.5 y pH 6.8, respectivamente y escasamente soluble en etanol²⁵.

Composición Química

Base libre: C 58.75%, H 6.16%, Cl 8.67%, N 6.85%, O 19.57%

Sal de Besilato: C 55.07%, H 5.51%, Cl 6.25%, N 4.94%, O 22.57%, S 5.65%

Coeficiente de Partición y distribución²⁴

Amlodipino en base libre

Log P (octanol/agua): 3.0

Log D (octanol/agua) a pH 7.4: 1.41

Besilato de amlodipino

Log P (octanol/agua): 0.65 a 32 °C

2.4.2 Estabilidad

Su reactividad está determinada principalmente por la presencia del anillo dihidropiridina y el grupo amino en la molécula. La aromatización presente en el grupo piridina es una de las principales vías de degradación de amlodipino la cual es promovida por la luz y sucede tanto en estado sólido como en solución²⁶.

El grupo amino presente en la molécula es también el responsable de la degradación de amlodipino ya que en presencia de azúcares reductores se presenta la reacción de Maillard²⁷.

La estabilidad de amlodipino en solución es altamente dependiente del pH.

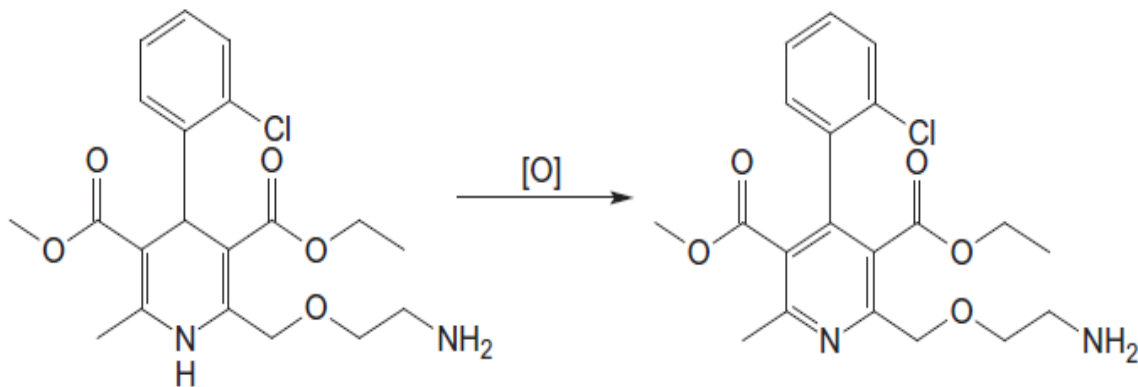


Figura 6. Oxidación de amlodipino.

2.4.3 Usos terapéuticos ²⁸

El Amlodipino está indicado en hipertensión arterial, angina de pecho crónica estable y angina vasoespástica (de Prinzmetal).

-Hipertensión.

Reducir la presión arterial, reduce el riesgo de eventos cardiovasculares fatales y no fatales, principalmente los accidentes cerebrovasculares y los infartos de miocardio.

-Enfermedades arteriales coronarias (EAC)

Angina crónica estable: se ha indicado para el tratamiento sintomático de la angina de pecho crónica estable. Puede ser utilizado solo o en combinación con otros agentes antianginosos.

Angina vasoespástica: se indica para el tratamiento de la angina vasoespástica confirmada o sospechada. Amlodipino puede usarse como monoterapia o en combinación con otros agentes antianginosos.

2.4.4 Farmacodinamia ²⁸

El amlodipino es un inhibidor de la entrada de iones calcio del grupo de dihidropiridinas (bloqueante de los canales lentos o antagonista del ion calcio) e impide el paso de los iones de calcio a través de la membrana celular en el músculo cardíaco y en el músculo liso vascular.

El mecanismo de acción antihipertensiva de amlodipino se debe a un efecto relajante directo sobre el músculo liso vascular. No se ha determinado totalmente el mecanismo exacto por el que amlodipino alivia la angina, pero se sabe que reduce la carga isquémica total mediante las dos acciones siguientes:

1) Dilatación de las arteriolas periféricas, reduciendo así la resistencia periférica total (postcarga), frente a la que trabaja el corazón. Como la frecuencia cardíaca permanece estable, se reduce el consumo de energía del miocardio, así como las necesidades de aporte de oxígeno del corazón.

2) Dilatación de las grandes arterias coronarias, así como de las arteriolas coronarias, tanto en las zonas normales, como en las isquémicas. Esta dilatación aumenta el aporte de oxígeno al miocardio en pacientes con espasmo de las arterias coronarias (angina variante o de Prinzmetal).

Debido a su lento inicio de acción, la hipotensión aguda no es una característica de la administración de amlodipino.

De la misma manera, una administración diaria de amlodipino disminuye tanto la frecuencia de crisis de angina semejante al obtenido con la administración de comprimidos de nitroglicerina.

2.4.5 Farmacocinética ^{29,30,31}

En voluntarios sanos se absorbe bien después de una administración oral de 10 mg, la biodisponibilidad es del 60 al 65 %. El tiempo en el que se alcanza la concentración máxima plasmática (Tmax) oscila entre 5.6 y 6.4h después de una administración de 2.5, 5.0 y 10.0 mg y la diferencia entre dosis no es significativa. Después de una administración oral de 10 mg de amlodipino, la concentración plasmática máxima (Cmax) es de 6.2 ng/mL.

El volumen aparente de distribución, observado en voluntarios sanos después de una administración de 10 mg por vía intravenosa, es de 24.4 ± 4.4 L/Kg, este volumen indica que el fármaco se distribuye en tejidos. El 97% de amlodipino se encuentra unido a proteínas plasmáticas.

El amlodipino se metaboliza extensamente en el hígado a metabolitos inactivos. Solo pequeñas cantidades del fármaco sin cambio metabólico se excretan por orina. La principal vía metabólica es por CYP3A4. La biodisponibilidad de amlodipino no se ve afectada por la ingesta de alimentos.

En la figura 7 se presentan las transformaciones metabólicas de amlodipino.

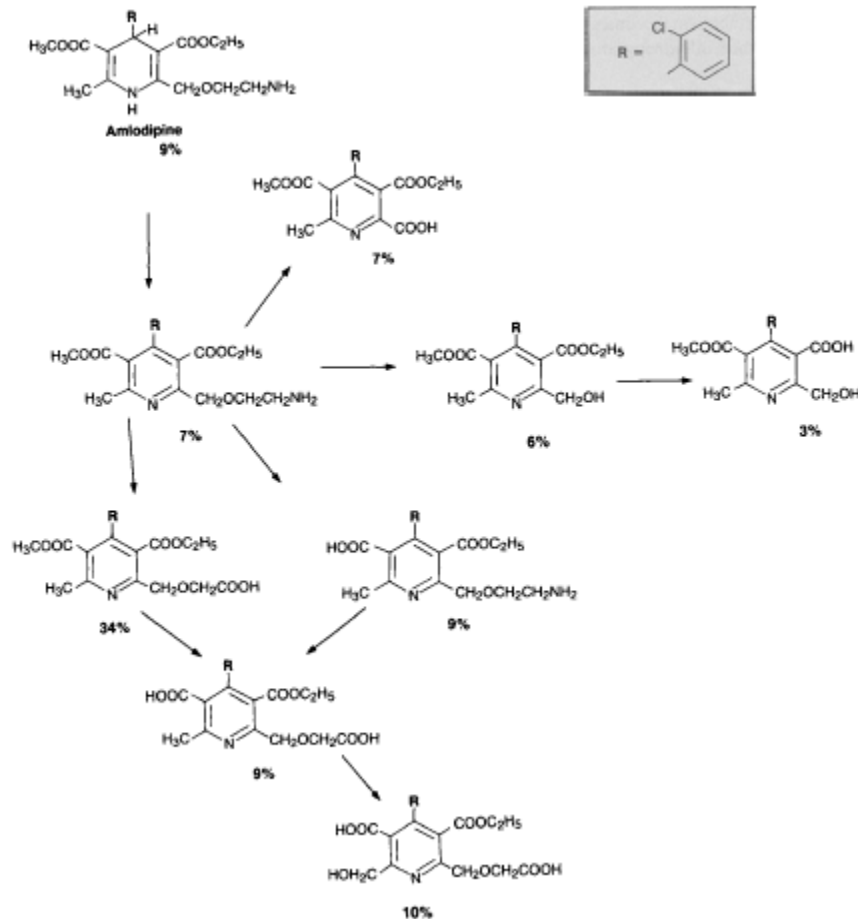


Figura 7. Metabolismo de amlodipino

Se excreta aproximadamente de un 59 a un 62% por la orina y sólo el 5% es amlodipino inalterado. Cerca del 20 al 25% es eliminado por vía biliar.

En pacientes con insuficiencia hepática, los datos clínicos disponibles son muy limitados. Se ha encontrado que en este tipo de pacientes el aclaramiento de amlodipino disminuye, lo que origina una vida media más larga y un incremento en el área bajo la curva de aproximadamente 40-60%.

El tiempo para alcanzar las concentraciones plasmáticas máximas de amlodipino es similar en personas de edad avanzada y jóvenes.

2.4.6 Presentaciones farmacéuticas³³

-Besilato de amlodipino. Tabletas de 2.5, 5.0 y 10 mg.

-Mesilato de amlodipino. Tabletas de 5 y 10 mg

2.4.7 Posología²⁸

Adultos.

Tanto para la hipertensión arterial como para la angina, la dosis inicial habitual es 5 mg una vez al día, que puede aumentarse hasta una dosis máxima de 10 mg, según la respuesta individual del paciente.

Poblaciones Especiales.

-Pacientes de edad avanzada. A dosis similares, se tolera bien, tanto en pacientes de edad avanzada como en pacientes más jóvenes. Aunque se recomienda un régimen de dosis normal, el aumento de la dosis debe realizarse con precaución en los pacientes de edad avanzada.

-Pacientes con insuficiencia hepática. No se han establecido recomendaciones de dosis en pacientes con insuficiencia hepática de leve a moderada, por lo tanto se debe seleccionar con precaución la dosis y se debe comenzar con el rango inferior de la dosis. En pacientes con insuficiencia hepática grave, amlodipino se debe iniciar con la dosis más baja y el ajuste de dosis se debe hacer lentamente.

-Pacientes con insuficiencia renal. Los cambios en las concentraciones plasmáticas de amlodipino no se correlacionan con el grado de insuficiencia renal, por lo tanto se recomiendan las dosis normales. Amlodipino no es dializable.

-Población pediátrica. La dosis recomendada de antihipertensivos orales en pacientes pediátricos de edades comprendidas entre 6-17 años es de 2.5 mg una

vez al día como dosis inicial, elevándola hasta 5 mg una vez al día si no se alcanza el objetivo de presión arterial después de 4 semanas. No se han estudiado dosis superiores a 5 mg diarios en pacientes pediátricos.

2.4.8 Interacciones ^{28, 34}

Inhibidores del CYP3A4.

El uso concomitante de amlodipino con inhibidores fuertes o moderados del citocromo CYP3A4 (inhibidores de la proteasa, antifúngicos azólicos, macrólidos como la eritromicina o la claritromicina, verapamilo o diltiazem) puede dar lugar a un aumento significativo en la exposición a amlodipino, con el consiguiente aumento del riesgo de hipotensión. De igual forma, no se recomienda la administración de amlodipino con jugo de toronja debido a que puede aumentar su biodisponibilidad en algunos pacientes dando lugar a un aumento de su efecto antihipertensivo.

La traducción clínica de estas variaciones de la farmacocinética puede ser más pronunciada en los pacientes de edad avanzada. Así, puede requerirse una monitorización clínica y un ajuste de dosis.

Inductores del citocromo CYP3A4.

No se dispone de datos sobre el efecto de los inductores del citocromo CYP3A4 sobre amlodipino. El uso concomitante de inductores del citocromo CYP3A4 (por ejemplo, rifampicina, *Hypericum perforatum* (Hierba de San Juan)) puede producir una reducción en la concentración plasmática de amlodipino. Se debe tener precaución cuando amlodipino se utiliza con inductores del citocromo CYP3A4.

Efectos de Amlodipino sobre otros medicamentos.

El efecto hipotensor de amlodipino se adiciona al efecto hipotensor de otros medicamentos con propiedades antihipertensivas.

-Tacrolimus. Existe el riesgo de que las concentraciones sanguíneas de tacrolimus aumenten cuando se administra conjuntamente con amlodipino, si bien el mecanismo farmacocinético de dicha interacción no se conoce en su totalidad. Cuando se administre amlodipino a un paciente en tratamiento con tacrolimus, es necesario comprobar las concentraciones sanguíneas de tacrolimus y ajustar su dosis cuando sea pertinente para evitar su toxicidad.

-Simvastatina. La administración conjunta de dosis múltiples de 10 mg de amlodipino con 80 mg de simvastatina dio lugar a un aumento de un 77% en la exposición a simvastatina comparado con simvastatina sola. En pacientes tratados con amlodipino, el límite de la dosis de simvastatina es de 20 mg al día.

En estudios clínicos de interacción, amlodipino no afectó la farmacocinética de atorvastatina, digoxina o warfarina.

2.4.9 Estudios de disolución

Se han realizado diferentes estudios de disolución de tabletas que contienen besilato de amlodipino.

Pant et al³² evaluaron los perfiles de disolución de productos conteniendo besilato de amlodipino, disponibles en la India a tres diferentes pH's (1.2, 4.5 y 6.8) utilizando 500 mL de medio y 75 rpm (aparato II USP), encontrando que la disolución tanto del medicamento de prueba como de referencia a pH de 1.2 fue muy rápida (85% o más del fármaco disuelto en 15 minutos); sin embargo a pH 4.5 y 6.8 solo el producto de prueba se disolvió más del 85% en 30 minutos (perfil de rápida disolución) resultando en que los perfiles de disolución del producto de prueba y el producto innovador no fueron similares.

En el estudio llevado a cabo por Shohin I. et al²⁰, se evaluaron productos comerciales disponibles en Rusia, utilizando el aparato II USP a 75 rpm y 500 mL de los medios a pH de 1.2, 4.5 y 6.8. Los autores encontraron que a pH 1.2 y 4.5

tanto el producto de referencia como el producto de prueba fueron de muy rápida disolución, y a pH 6.8 los productos se disolvieron más del 85% en 30 minutos y resultaron similares por lo que cumplieron con el criterio para bioexención

En estudios anteriores realizados en el laboratorio de Biofarmacia, los cuales se realizaron a los tres diferentes pHs utilizando 500mL de medio y 75 rpm con el aparato II, se evaluaron tres medicamentos de prueba que resultaron ser bioequivalentes y el medicamento de referencia, estos productos mostraron que tanto a pH 1.2 y 4.5 los perfiles de los medicamentos de prueba como los de referencia cumplieron con los criterios de muy rápida disolución, pero a pH 6.8 solo un producto de prueba cumplió con el criterio de rápida disolución. Del mismo modo, ningún producto cumplió con la prueba f2. Los resultados sugieren que en estas condiciones de estudio, el perfil de disolución comparativo a pH 6,8 no es una prueba suficiente para demostrar la bioequivalencia de las formulaciones de amlodipino. Por este motivo se consideró importante evaluar diferentes condiciones de disolución en este pH para poder encontrar una relación entre los resultados obtenidos *in vivo* con los obtenidos *in vitro*³⁶.

3 DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentos y equipos:

- Balanza analítica Sartorius
- Disolutor VanKel VK7000
- Potenciómetro Thermo Orion Star A211
- Espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu
- Cromatógrafo de Líquidos de Alta Eficiencia Shimadzu
- Parrillas de calentamiento y agitación
- Baño de ultrasonido Transsonic 700 H

3.2 Material:

- Columna cromatográfica: Zorbax Eclipse XDB-C18, 4.6x150mm 5 μ m (Agilent Technologies)
- Barras magnéticas
- Termómetro
- Micropipeta Eppendorf 100- 1000 μ L
- Micropipeta Eppendorf 1000- 5000 μ L
- Micropipeta Eppendorf 1 – 10 mL
- Puntas para micropipeta
- Matraces volumétricos de 10 mL
- Matraces volumétricos de 50 mL
- Matraces volumétricos de 2 L
- Matraz volumétrico de 5 L
- Tubos de ensayo 13 x 100 mm
- Jeringas de 5 mL
- Filtros de teflón 35 μ m
- Gradilla

- Vasos de precipitados de 50 mL
- Cronómetro
- Pipetas Pasteur con bulbo

3.3 Reactivos

- Besilato de amlodipino (estándar primario) Sigma-Aldrich, lote PS00185
- Agua purificada, se obtiene de un Milli-Q sistema de purificación de agua (Millipore, Milford, MA, EE.UU.).
- Fosfato monobásico de potasio (J.T: Baker) grado reactivo
- Escamas de hidróxido de sodio (J.T: Baker) grado reactivo
- Metanol (J.T:Baker) grado CLAR
- Acetonitrilo (J.T:Baker) gradoCLAR
- Trietilamina(J.T:Baker) grado reactivo

3.4 Productos

Para llevar a cabo el presente estudio se estudiaron 3 lotes comerciales del producto de referencia Norvas y 1 lote de un producto genérico Angiodal, todos ellos en presentación de tabletas de 5 mg.

Los lotes estudiados del producto Norvas fueron:

LOTE 1: Lote: 1305008. Caducidad: Mayo del 2015.

LOTE 2. Lote: 1405002 Caducidad: Octubre del 2015.

LOTE 3. Lote: 1405003. Caducidad: Marzo del 2016.

El lote del producto ANGIODAL fue: SA1538. Caducidad: Enero del 2017

3.5 Valoración³⁵

Se llevó a cabo esta prueba siguiendo la metodología indicada en la USP 2011 con el fin de determinar la equivalencia en el contenido de los productos. La metodología a seguir fue la siguiente:

3.5.1 Preparación de fase móvil

- Metanol: Acetonitrilo: Trietilamina

Solución de Trietilamina pH 3: añadir 7 mL de trietilamina en un matraz volumétrico de 1 L, el cual contiene 900 mL de agua. Ajustar la solución con ácido fosfórico a pH 3 ± 0.1 , llevar a volumen con agua y mezclar.

Filtrar por separado cada componente. Añadir las siguientes proporciones de acetonitrilo, metanol y solución de trietilamina pH 3 correspondientes, 35:15:50.

3.5.2 Preparación de Solución estándar

Pesar aproximadamente 13.9 mg de besilato de amlodipino (equivalente a 10 mg de amlodipino), colocar en un matraz volumétrico de 500 mL agregar 300 mL de fase móvil (Metanol, Acetonitrilo, y solución de trietilamina pH 3) y someter a ultrasonido por 10 min. Llevar al volumen con fase móvil, filtrar la solución y colocar en frascos viales.

3.5.3 Preparación de la muestra

Colocar 5 tabletas (del producto de referencia o de prueba según sea el caso) en un matraz volumétrico de 500 mL, dispersar las tabletas con agitación mecánica y colocar en baño de ultrasonido por 15 min, dejar enfriar y llevar a la marca de aforo con fase móvil, filtrar la solución obtenida, tomar una alícuota de 4 mL y

colocar en un matraz volumétrico de 10 mL. Llevar a volumen con fase móvil, filtrar la solución y colocar en frascos viales.

Inyectar cada solución al cromatógrafo por triplicado.

3.5.4 Condiciones cromatográficas para la prueba de valoración

- Detector: UV 237nm
- Columna: L1= Octadecil-silano enlazado químicamente a silica porosa o a micropartículas de cerámica de 5 a 10 µm de diámetro.
- Flujo: 1mL/min
- Volumen de inyección: 50 µL
- Fase móvil: Metanol, Acetonitrilo y solución de trietilamina pH 3 (35:15:50)
- Temperatura de la columna: temperatura ambiente

Para el cálculo del porcentaje de amlodipino contenido en las tabletas se empleó la siguiente fórmula:

$$\%Amlodipino = \left(\frac{Am}{Astd} \right) \times \left(\frac{Cstd}{Cm} \right) \times 100$$

donde

Am: Área de la solución del producto analizado

Astd: Área de la solución estándar

Cstd: Concentración de la solución estándar

Cm: Concentración de la solución del producto analizado

Criterio de aceptación: Contiene no menos del 90% y no más del 110% de la cantidad de amlodipino declarada en el marbete.

3.6 Validación del método analítico para estudios de disolución

Tomando como base la NOM-177-SSA1-2013, para asegurar la validez de los resultados de los estudios de perfiles de disolución, la metodología analítica debe estar previamente validada.

Por lo anterior, se realizó la validación tanto con el fármaco como con el medicamento y esta se realizó mediante espectrofotometría de UV.

Los parámetros de validación con el fármaco fueron: linealidad, precisión, influencia del filtro y estabilidad.

Los parámetros de validación con el medicamento fueron: linealidad, repetibilidad y reproducibilidad, exactitud, selectividad.

El intervalo de la curva de calibración de amlodipino, fue 1.0 – 7.0 $\mu\text{g/mL}$ de amlodipino. La preparación de las soluciones se describe en la tabla 1 y cada una se llevó a la marca de aforo con medio de disolución.

- Preparación de solución stock de amlodipino 100 $\mu\text{g/mL}$

Pesar aproximadamente 0.0139 g de besilato de amlodipino, equivalente a 10 mg de amlodipino, colocar en un matraz de 100 mL y llevar a volumen con solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8.

Tabla 1. Preparación de la curva de calibración de Amlodipino.

*Solución Stock 100 µg amlodipino/mL

Número de solución	Alícuota µL	Aforo	Concentración µg/mL
1	700 µL de solución Stock	10 mL	7
2	500 µL de solución Stock	10 mL	5
3	400 µL de solución Stock	10 mL	4
4	5000 µL de solución 3	10 mL	2
5	5000 µL de solución 4	10 mL	1

3.6.1 Validación con el fármaco:

Para la validación del sistema se prepararon tres curvas de calibración de acuerdo a la tabla 1 y se analizaron espectrofotométricamente a 250nm.

Parámetros

Linealidad:

De los datos obtenidos de las 3 curvas, se calculó, el coeficiente de correlación (r), la pendiente (m), la ordenada al origen (b) y el Error Relativo debido a la Regresión (ERR%) el cual determinó empleando en la siguiente ecuación:

$$ERR\% = \frac{S_{y/x}}{\bar{y}} \times 100$$

en donde:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - (\text{pendiente} * \sum yx) - (\text{ordenada} * \sum y)}{n-2}}$$

S y/x, desviación estándar de la regresión)

\bar{Y} , promedio de la respuesta

X, concentración

Y, respuesta

n-2, grados de libertad

Criterio de aceptación: El coeficiente de regresión deberá ser mayor o igual que 0.99 y el error relativo debido a la regresión no mayor al 2%.

Precisión:

Para determinar la precisión, se calculó el factor de respuesta dividiendo la respuesta obtenida (absorbancia) entre la concentración correspondiente a cada punto de las curvas. A partir de estos resultados, se calculó el coeficiente de variación (CV%) de todos los puntos del sistema.

$$Factor\ respuesta = \frac{Abs}{Conc}$$

donde

Abs= Absorbancia

Conc= Concentracion nominal ($\mu\text{g/mL}$)

Criterio de aceptación: el coeficiente de variación del factor de respuesta no debe ser mayor que el 2%.

Estabilidad:

Para evaluar la estabilidad se prepararon por triplicado soluciones conteniendo $7\mu\text{g/mL}$ de amlodipino y se mantuvieron a temperatura ambiente. Se determinó la absorbancia a 250nm a los siguientes tiempos: 0, 1, 2 y 24 horas.

A partir de estos datos, se determinó la diferencia absoluta del porcentaje cuantificado mediante la siguiente ecuación:

$$DEA\% = \left(\frac{Abs\ in - Abs\ prom}{Abs\ in} \right) * 100$$

donde:

Abs in= Absorbancia inicial de la solución (0 horas).

Abs prom=Absorbancia promedio de las lecturas subsecuentes

Criterio de aceptación: La diferencia absoluta del promedio del porcentaje cuantificado en el análisis inicial y final debe ser menor o igual a 3%.

Influencia del Filtro:

Para evaluar la influencia del filtro se prepararon 50 mL de la solución de Amlodipino de 100µg/mL y a partir de esta solución se prepararon 50 mL de soluciones a las concentraciones de 1 y 7µg/mL.

En tubos de ensaye se colocaron de 5mL de cada una de las concentraciones y se identificaron como soluciones sin filtrar. Las muestras restantes se filtraron utilizando una jeringa con una cánula y filtro de teflón de 35µm y se colocaron en otro tubo. Este procedimiento se realizó por sextuplicado.

Las muestras se leyeron a una longitud de onda de 250 nm, utilizando como blanco solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8.

El porcentaje retenido se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$\% Retenido = 100 - \left(\frac{100 * Abs\ prom}{Abs\ sf} \right)$$

donde:

Abs prom=Absorbancia promedio de la solución filtrada.

Abs sf= Absorbancia de la solución sin filtrar.

Criterio de aceptación: La diferencia absoluta entre el promedio de la muestra sin filtrar y el promedio de las muestras filtradas debe ser igual o menor al 2%.

3.6.2 Validación con el medicamento:

Para la validación con el medicamento se pesaron por separado 10 tabletas del medicamento de referencia, se determinó el peso promedio y se trituraron. A partir de esta mezcla, se pesó el equivalente a 5 mg de amlodipino, se colocó en un matraz volumétrico de 50mL y se llevó a volumen con solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8. Esta solución contiene 100 μ g/mL,

Se prepararon tres curvas de calibración diarias durante dos días empleando las mismas concentraciones que las de la validación del sistema (ver tabla 1).

Los parámetros a evaluar fueron:

Linealidad:

Para evaluar la linealidad del método se calcularon los siguientes parámetros: coeficiente de correlación (r), pendiente (m), ordenada al origen (b) para cada curva y el error relativo debido a la regresión (ERR%).

Criterio de aceptación: La linealidad se demuestra si el coeficiente de correlación es mayor o igual al 0.99 y un ERR menor o igual al 3.0%.

Exactitud:

Para evaluar la exactitud, se calculó la concentración recuperada de cada absorbancia obtenida por medio de la ecuación.

A partir de esos datos se calculó la desviación absoluta (DEA%) para cada punto de la curva de calibración. A continuación se muestra el cálculo de la DEA:

$$\text{Concentración experimental} = \frac{\text{absorbancia} - \text{ordenada al origen (b)}}{\text{pendiente (m)}}$$

A partir de esos datos se calculó la desviación absoluta (DEA%) para cada punto de la curva de calibración.

$$\% \text{DEA} = \left| \frac{\text{Concentración nominal} - \text{Concentración experimental}}{\text{Concentración nominal}} \right|$$

Criterio de aceptación: El promedio del porcentaje de la recuperación de los datos de linealidad no debe variar con respecto a la cantidad nominal en más de 3% en cada punto.

Precisión:

La precisión del sistema se evaluó en términos de repetibilidad y reproducibilidad:

- Repetibilidad: De los datos obtenidos de las 3 curvas de linealidad preparadas en un mismo día se calculó, para cada concentración, la media (\bar{x}), la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV%).

Criterio de aceptación: El coeficiente de variación del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no debe ser mayor que el 3%.

- Reproducibilidad: Para determinar este parámetro, se prepararon curvas de calibración por triplicado por dos días, Para cada concentración se calculó la media (\bar{x}), la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV%).

Criterio de aceptación: El coeficiente de variación global no debe ser mayor que el 3%.

Selectividad:

Se prepararon 3 soluciones de concentración $7\mu\text{g/mL}$ de amlodipino. Una con el estándar de besilato de amlodipino, la segunda con el medicamento de referencia (Norvas) y la última con el medicamento de prueba (Angiodal). Para cada solución se realizó un barrido en el espectrofotómetro de luz UV de 200 a 300nm y se compararon los espectros obtenidos.

Criterio de aceptación: Se debe demostrar la selectividad del método para el fármaco ante otros componentes de la muestra, cualquier interferencia no debe producir un error mayor al aceptado en precisión y exactitud. Error no mayor al 3%.

Para el caso del Angiodal, no se llevó a cabo la validación, ya que este había sido validado previamente por Marisol Soriano Razo en el laboratorio de biofarmacia de la UNAM³⁶.

3.7 Perfiles de disolución

3.7.1 Preparación del medio de disolución

- Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8

En un matraz volumétrico de 1 litro disolver 6.8045 g de fosfato monobásico de potasio en aproximadamente 250 mL, agregar 50 mL de hidróxido de sodio 0.5 M, ajustar el pH con solución de hidróxido de sodio o ácido fosfórico. Llevar a volumen con agua destilada.

3.7.2 Proceso de desgasificación del medio

Se calentó el medio a 45 °C y se filtró inmediatamente con ayuda del vacío a través de un filtro con porosidad de 0.45 μm o menor, agitando vigorosamente y continuando la agitación durante 5 minutos.

3.7.3 Condiciones del estudio

Para el estudio se, emplearon diferentes condiciones, las cuales se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones utilizadas para los perfiles de disolución de amlodipino.

Variable	Condición
Medio	Solución amortiguadora de fosfatos 0.05 M pH 6.8±0.05.
Volumen, agitación y aparato USP	1) 500 mL; 75 rpm; aparato 2 (paletas)
	2) 900 mL; 75rpm; aparato 2 (paletas)
	3) 900 mL; 100 rpm; aparato 1 (canastillas)
Volumen de alícuota	5 mL sin reposición
Temperatura	37 ± 0.5 °C
Tiempos de muestreo	10, 15, 20, 30, 45 y 60 minutos
Análisis espectrofotométrico	Celda: cuarzo 1.0 cm
	Longitud de onda: 250 nm

3.7.4 Metodología

El medio de disolución se empleó inmediatamente después de desgasificarlo colocando el volumen de medio requerido en cada vaso (±1% del volumen especificado) resbalándolo por las paredes con el fin evitar burbujas o turbulencias.

-Estudio en canastillas: Se depositó una tableta en cada canastilla y posteriormente se colocó en su correspondiente vástago. Se sumergió la canastilla a una distancia entre el fondo del interior del vaso y la parte interior del elemento de 25 ± 0.5 mm y se inició inmediatamente la agitación.

-Estudio en paletas: Se deslizó la tableta por la pared del vaso considerando que la prueba inició cuando las muestras llegaron al fondo del vaso. Se inició la agitación. Las tabletas se colocaron con una diferencia de 20 segundos entre cada vaso. La distancia entre el fondo y las paletas fue de 25 ± 0.5 mm.

3.7.5 Muestreo

Se tomaron 5 mL de muestra de cada vaso a los tiempos especificados en la tabla 2 con ayuda de una jeringa de 10 mL a la que se le adecuó un muestreador con filtro de teflón. La muestra se tomó en la zona central entre la superficie del medio de disolución y la parte superior de la hoja de la canastilla o la parte superior de la hoja de la paleta y a menos de 1.0 cm de la pared del vaso. El medio de disolución no se repuso.

3.7.6 Cuantificación

Para los perfiles de disolución en los que se emplearon 900mL de medio, las muestras se leyeron directamente al espectrofotómetro a una longitud de onda de 250 nm.

Para los perfiles de disolución en los que se emplearon 500mL de medio, se realizó una dilución de 2.5 mL de muestra y 2.5mL de medio de disolución y se determinó la absorbancia a 250 nm.

La concentración de amlodipino en la muestra tomada a cada tiempo se determinó interpolando la respuesta obtenida, en una curva de calibración preparada el mismo día del estudio, empleando la siguiente fórmula

$$X_i = \frac{Y_i - b}{m}$$

donde:

X_i =Concentración de amlodipino en $\mu\text{g/mL}$ al i -ésimo tiempo de muestreo

b = Ordenada al origen de la curva de calibración

m = Pendiente de la curva de calibración

Para el cálculo del porcentaje disuelto se utilizó el siguiente procedimiento.

- 1 Se calcularon los miligramos de amlodipino disuelto en el volumen de alícuota tomada al i -ésimo tiempo de muestreo:

$$E_i = \frac{X_i * F_d * v}{1000}$$

donde:

E_i = Miligramos disueltos de amlodipino disueltos en el volumen de alícuota tomada al i -ésimo tiempo.

F_d = Factor de dilución de la muestra. Para los perfiles donde se utilizó 500mL de medio el F_d es igual a 2 y para los perfiles donde se utilizaron 900mL de medio el F_d es igual a 1

v = Volumen de alícuota tomada ($v=5\text{mL}$)

1000= factor de conversión de unidades de μg a mg

- 2 Se calcularon los miligramos disueltos de amlodipino disueltos al i -ésimo tiempo de muestreo:

$$D_i = \frac{X_i * F_d * V_i}{1000} + \sum_{i=0}^{N-1} E_i$$

donde:

$$V_i = V_o - [(n - 1)]v$$

D_i = Miligramos de amlodipino disueltos al i -ésimo tiempo de muestreo.

X_i = Concentración de amlodipino en $\mu\text{g/mL}$ al i -ésimo tiempo de muestreo.

F_d = Factor de dilución de la muestra. Para los perfiles donde se utilizó 500mL de medio el F_d es igual a 2 y para los perfiles donde se utilizaron 900mL de medio el F_d es igual a 1.

V_i =Volumen de medio de disolución al i -ésimo tiempo de muestreo en mL

E_i = Miligramos disueltos de amlodipino disueltos en el volumen de alícuota tomada al i -ésimo tiempo.

1000= factor de conversión de unidades de μg a mg

V_i = Volumen inicial de medio de disolución (900mL ó 500mL según sea el caso)

n = número de extracciones.

v = Volumen de alícuota tomada ($v=5\text{mL}$).

3 Se calculó el porcentaje de amlodipino disuelto a cada tiempo:

$$\%Disuelto: \frac{D_i}{Dosis} * 100$$

donde:

D_i = Miligramos de amlodipino disueltos al i -ésimo tiempo de muestreo.

Dosis= Dosis nominal de Amlodipino (5mg)

3.7.7 Comparación de los perfiles de disolución por medio del factor de similitud (f_2).

Para el cálculo se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

- El coeficiente de variación del porcentaje disuelto es menor o igual que el 20% para el primer tiempo de muestreo y menor o igual que el 10% para los tiempos subsecuentes.
- Comparar los valores promedio desde el primer tiempo de muestreo hasta máximo un tiempo de muestreo después de que el medicamento de referencia ha alcanzado el 85% del fármaco disuelto con un mínimo de 3 puntos.

Calculo del factor de similitud (f_2):

Para el cálculo del factor de similitud se empleó la siguiente ecuación:

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^{t=n} [\bar{R}(t) - \bar{T}(t)]^2}{n}}} \right]$$

donde:

n = número de tiempos de muestreo.

$R(t)$ = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de referencia.

$P(t)$ = porcentaje disuelto promedio en el tiempo t del medicamento de prueba.

*Si el valor de f_2 es mayor o igual a 50 los perfiles de disolución son similares.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Valoración

En la tabla 3 se muestran los resultados de las valoraciones realizadas a los lotes bajo estudio. Como se puede observar todos los lotes cumplieron con el criterio de aceptación establecido (90-110% según la USP 2011³⁵) y no se encontró una diferencia mayor del 5% entre los lotes, por lo que se consideraron adecuados para llevar a cabo el estudio.

Tabla 3. Valoración de los productos en estudio por CLAR

	Norvas Lote 1	Norvas Lote 2	Norvas Lote 3	Angiodal
Porcentaje de amlodipino	99.03 %	98.92 %	95.86 %	99.60 %
CV%	0.034	0.072	0.355	0.425

4.2 Validación del método analítico para los estudios de perfil de disolución

4.2.1 Validación con el fármaco

Linealidad y precisión con el fármaco:

En la figura 8 y tabla 4 se muestran los resultados de linealidad y precisión del sistema para la cuantificación de amlodipino en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8. Se puede observar que el sistema fue lineal ya que el coeficiente de correlación (r) fue de 0.9998 y el error relativo debido a la regresión (ERR%) fue de 0.9450%. El sistema fue preciso ya que el coeficiente de variación para el

factor respuesta fue igual a 1.567. Por lo tanto se cumplieron con los requisitos establecidos en la NOM-177-SSA1-2013.

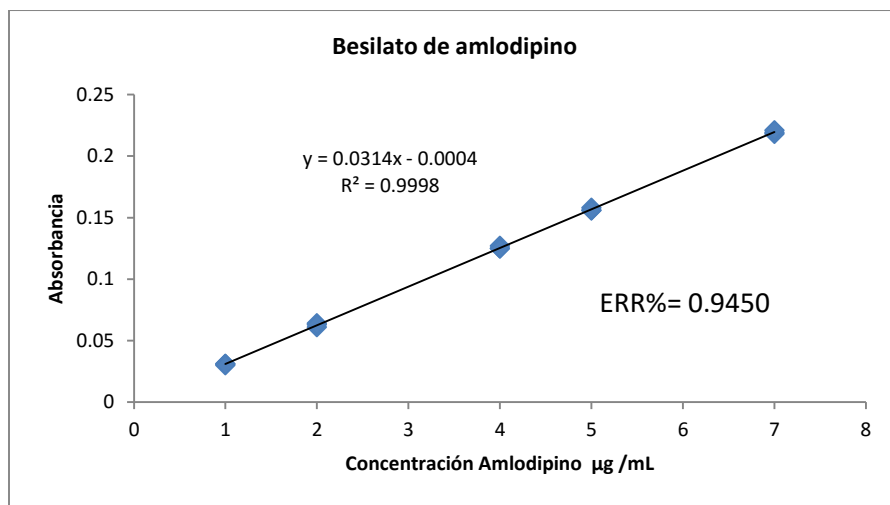


Figura 8. Resultados de linealidad con el fármaco para la cuantificación de amlodipino a pH 6.8.

Tabla 4. Resultados de precisión con el fármaco para la cuantificación de amlodipino en pH 6.8.

Concentración (µg/mL)	ABSORBANCIA			FACTOR RESPUESTA		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1	0.031	0.031	0.030	0.031	0.031	0.030
2	0.061	0.064	0.063	0.031	0.032	0.032
4	0.125	0.127	0.125	0.031	0.032	0.031
5	0.158	0.156	0.156	0.032	0.031	0.031
7	0.218	0.219	0.221	0.031	0.031	0.032
DE						0.0005
Promedio						0.0312
CV%						1.567

Estabilidad:

En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos de estabilidad de la muestra en la solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8. En ella se puede observar que la diferencia absoluta entre la respuesta obtenida al inicio del análisis y el promedio de las lecturas subsecuentes fue menor a 3% en las tres diferentes soluciones, lo que demuestra que el fármaco es estable por 24 horas a temperatura ambiente.

Tabla 5 Estabilidad de amlodipino en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8

Número de solución	Absorbancia 250 nm					Promedio	Desviación estándar	DEA%
	0 horas	1 hora	2 horas	3 horas	24 horas			
1	0.217	0.217	0.215	0.215	0.209	0.2140	0.0035	1.3825
2	0.216	0.217	0.214	0.214	0.209	0.2135	0.0033	1.1574
3	0.217	0.216	0.214	0.215	0.208	0.2133	0.0036	1.7281

Influencia del filtro:

En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación de la influencia del filtro. En ella se puede observar que el porcentaje retenido tanto para la concentración más baja como para la concentración más alta de la curva de calibración fue menor al 2%, lo que indica que la adherencia del fármaco al filtro es baja, por lo que los filtros de teflón son adecuados para realizar los perfiles de disolución

Tabla 6 Evaluación de la influencia del filtro

Concentración	Solución sin filtrar	Solución filtrada						Promedio	% Retenido
		1	2	3	4	5	6		
1µg/mL	0.030	0.029	0.029	0.030	0.030	0.030	0.029	0.0295	1.6667
7µg/mL	0.217	0.215	0.216	0.218	0.215	0.214	0.215	0.2155	0.6912

4.2.2 Validación con el medicamento

Linealidad, precisión y exactitud con el medicamento:

En la figura 9 se muestra la linealidad del método analítico y en la Tabla 7 se muestran los resultados obtenidos el día 1 de la validación del método utilizando el medicamento de referencia (NORVAS Lote:1305008). Se observa que el método fue lineal ya que con las tres curvas de calibración realizadas se obtuvo un coeficiente de correlación mayor a 0.99 y un error relativo debido a la regresión menor al 3%, el método fue preciso en términos de repetibilidad ya que el coeficiente de variación en la recuperación no fue mayor al 3% y es un método exacto ya que el valor de desviación absoluta (DEA) fue menor al 3% para cada concentración nominal de la curva. Para el segundo día de análisis de la validación del método también se cumplieron los criterios de linealidad, precisión exactitud como se muestra en la tabla 8.

De igual forma el método es reproducible ya que como se muestra en la tabla 9 el coeficiente de variación global de los datos de exactitud del método (concentración experimental) fue menor al 3%.

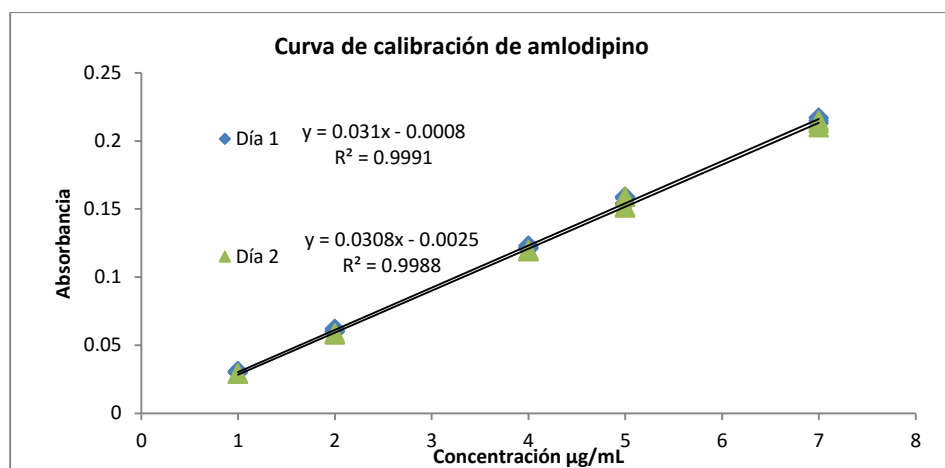


Figura 9. Linealidad con el medicamento de referencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 7. Linealidad, repetibilidad y exactitud del método para cuantificar amlodipino a pH 6.8 Día 1.

Concentración $\mu\text{g/mL}$	Absorbancia (250 nm)			Media	DE	CV%	Concentración experimental promedio ($\mu\text{g/mL}$)	DEA%
	Curva 1	Curva 2	Curva 3					
1	0.031	0.030	0.030	0.0303	0.0006	1.903	1.004	0.377
2	0.062	0.060	0.060	0.0607	0.0012	1.903	1.982	0.877
4	0.123	0.122	0.121	0.1220	0.0010	0.820	3.961	0.967
5	0.154	0.158	0.159	0.1570	0.0026	1.685	5.091	1.811
7	0.215	0.213	0.217	0.2150	0.0020	0.930	6.962	0.544
Ordenada al origen (b)	-0.0008							
Pendiente (m)	0.0310							
Correlación (r)	0.9995							
ERR %)	1.8423							

Tabla 8. Linealidad, repetibilidad y exactitud del método para cuantificar amlodipino a pH 6.8 Día 2.

Concentración $\mu\text{g/mL}$	Absorbancia (250 nm)			Media	DE	CV%	Concentración experimental promedio ($\mu\text{g/mL}$)	DEA%
	Curva 1	Curva 2	Curva 3					
1	0.029	0.029	0.029	0.0290	0	0	1.022	2.162
2	0.058	0.058	0.059	0.0583	0.0006	0.990	1.973	1.351
4	0.119	0.119	0.120	0.1193	0.0006	0.484	3.951	1.216
5	0.152	0.151	0.159	0.1540	0.0044	2.830	5.076	1.513
7	0.215	0.213	0.210	0.2127	0.0025	1.183	6.978	0.309
Ordenada al origen (b)	-0.0025							
Pendiente (m)	0.0308							
Correlación (r)	0.9994							
ERR %)	2.1611							

Tabla 9. Reproducibilidad del método analítico para cuantificar amlodipino a pH 6.8 en dos días de análisis.

Concentración $\mu\text{g/mL}$	Concentración experimental $\mu\text{g/mL}$						Media	DE	CV%
	Día 1			Día 2					
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
1	1.025	0.993	0.993	1.022	1.022	1.022	1.013	0.015	1.512
2	2.025	1.961	1.961	1.962	1.962	1.995	1.978	0.027	1.359
4	3.994	3.961	3.929	3.941	3.941	3.973	3.956	0.024	0.612
5	4.994	5.123	5.155	5.011	4.978	5.238	5.083	0.105	2.061
7	6.962	6.897	7.026	7.054	6.989	6.892	6.970	0.066	0.953

Selectividad

En figura 10 y en la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos en el análisis de selectividad del método para la cuantificación de amlodipino en tabletas. Los espectros obtenidos para las tres soluciones preparadas a la misma concentración fueron muy similares y no se observó ninguna interferencia, por lo que se puede decir que el método de cuantificación de amlodipino a pH 6.8 es selectivo.

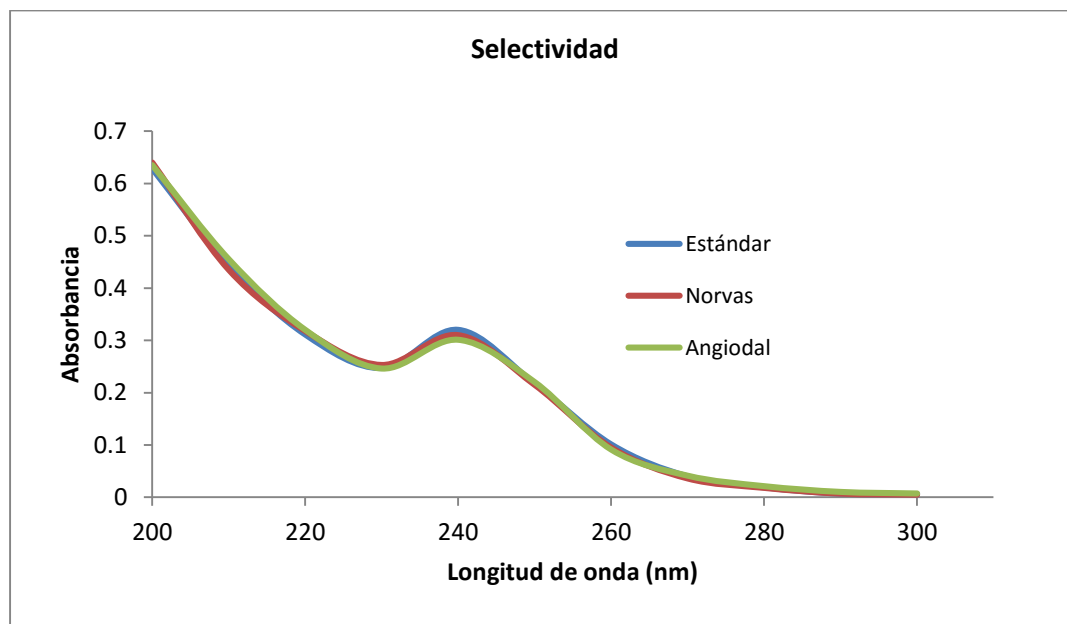


Figura 10. Selectividad del método para la cuantificación de amlodipino a pH 6.8.

Tabla 10. Selectividad del método para la cuantificación de amlodipino a pH 6.8

longitud de onda (nm)	Solución estándar	Norvas	Angiodal
200	0.628	0.640	0.635
210	0.443	0.435	0.455
220	0.311	0.318	0.320
230	0.247	0.253	0.246
240	0.320	0.310	0.301
250	0.217	0.215	0.220
260	0.101	0.095	0.091
270	0.040	0.036	0.041
280	0.019	0.018	0.021
290	0.007	0.007	0.010
300	0.006	0.005	0.007

4.3 Perfil de disolución

4.3.1 Perfiles de Disolución del Lote 1 (1305008)

En la figura 11 se muestran los perfiles de disolución del lote 1 de Norvas, bajo las diferentes condiciones estudiadas. En ella se puede observar que la velocidad de disolución aumenta al aumentar el volumen de medio. De igual forma el método de agitación está directamente relacionado con la velocidad de disolución, siendo mayor al utilizar canastillas (aparato 1). Ello puede deberse a que la tableta se mantuvo el suficiente tiempo dentro de la canasta (donde el flujo hidrodinámico es mayor y por lo tanto la velocidad de disolución es mayor) antes de desintegrarse y que los agregados llegaran al fondo, si observamos el primer tiempo de muestreo cuando se utilizan canastillas el porcentaje disuelto ya supera el 85 %. De igual forma en la tabla 11 se puede observar que en todos los casos, el coeficiente de variación fue menor al 10%. Al comparar los perfiles de disolución se encontró que al utilizar el mismo método de agitación, el aumento del volumen del medio de disolución no fue suficiente para obtener una diferencia significativa entre ellos (ver tabla 12), sin embargo al aumentar el volumen del medio y cambiar el método

de agitación el cambio fue más evidente, en este caso el producto se disolvió más del 85% en 15 minutos por lo que se clasificó de muy rápida disolución.

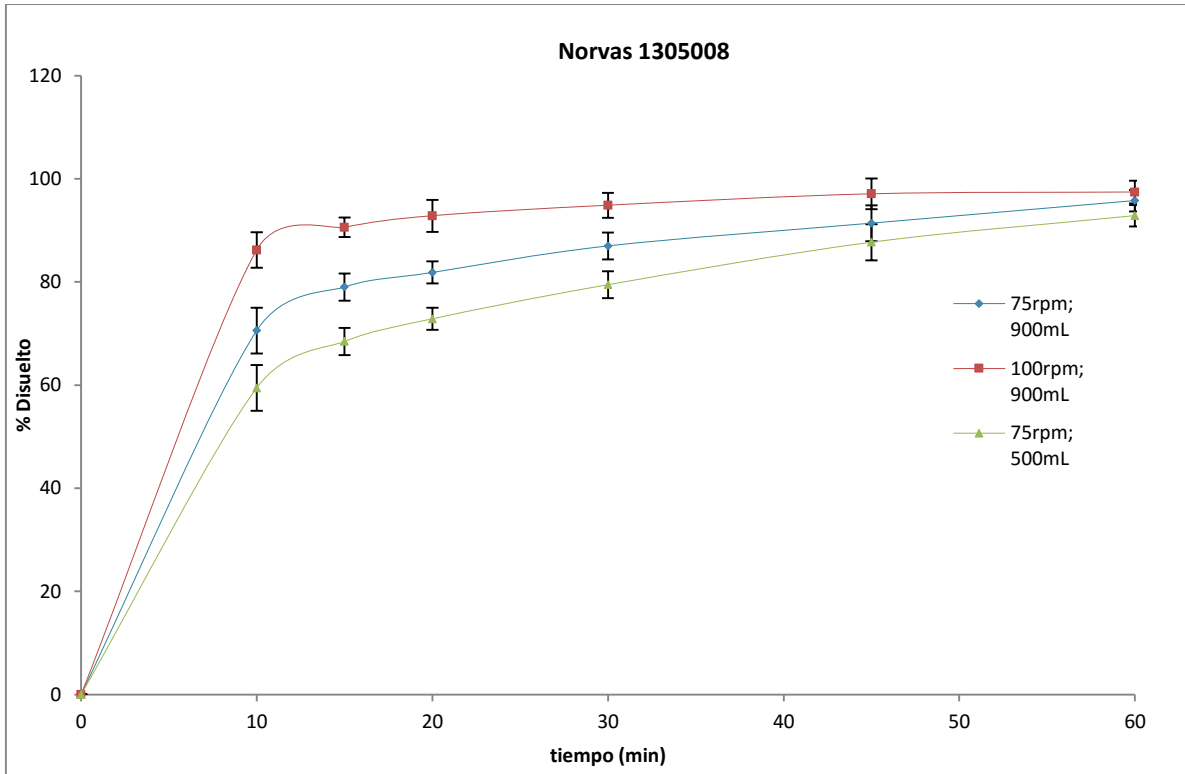


Figura 11. Perfiles de Disolución del lote 1 bajo diferentes condiciones de Disolución.

Tabla 11. Valores promedio del porcentaje disuelto vs tiempo del lote 1 a las diferentes condiciones estudiadas

Tiempo (min)	Condiciones (agitación, volumen)					
	75rpm, 500mL		75rpm, 900mL		100rpm, 900mL	
	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV
10	59.45	7.48	70.58	5.02	86.20	4.01
15	68.46	3.87	79.01	6.71	90.59	2.10
20	72.86	2.95	81.84	5.61	92.83	3.33
30	79.46	3.28	86.98	5.73	94.86	2.58
45	87.70	3.98	91.39	4.22	97.07	3.06
60	92.86	2.25	95.77	5.78	97.42	2.25

Tabla 12. Comparación de los perfiles de disolución para el lote 1 bajo las diferentes condiciones de disolución

Condiciones	f_2	Observaciones
500mL y 75rpm VS 900mL y 75 rpm	50.66	Perfiles similares
500mL y 75rpm VS 900mL y 100 rpm	Un perfil de muy rápida disolución	Perfiles no similares
900mL y 75rpm VS 900mL y 100 rpm	Un perfil de muy rápida disolución	Perfiles no similares

4.3.2 Perfiles de disolución del Lote 2 (1405002)

Para asegurar la consistencia entre los lotes del medicamento de referencia se realizó el mismo experimento pero con un diferente lote de Norvas. En figura 12 se muestran los resultados obtenidos de los perfiles de disolución del lote 1405002 realizados. Se encontró una tendencia parecida al primer lote (al aumentar el volumen de disolución y cambiar el método de agitación aumenta la disolución de amlodipino).

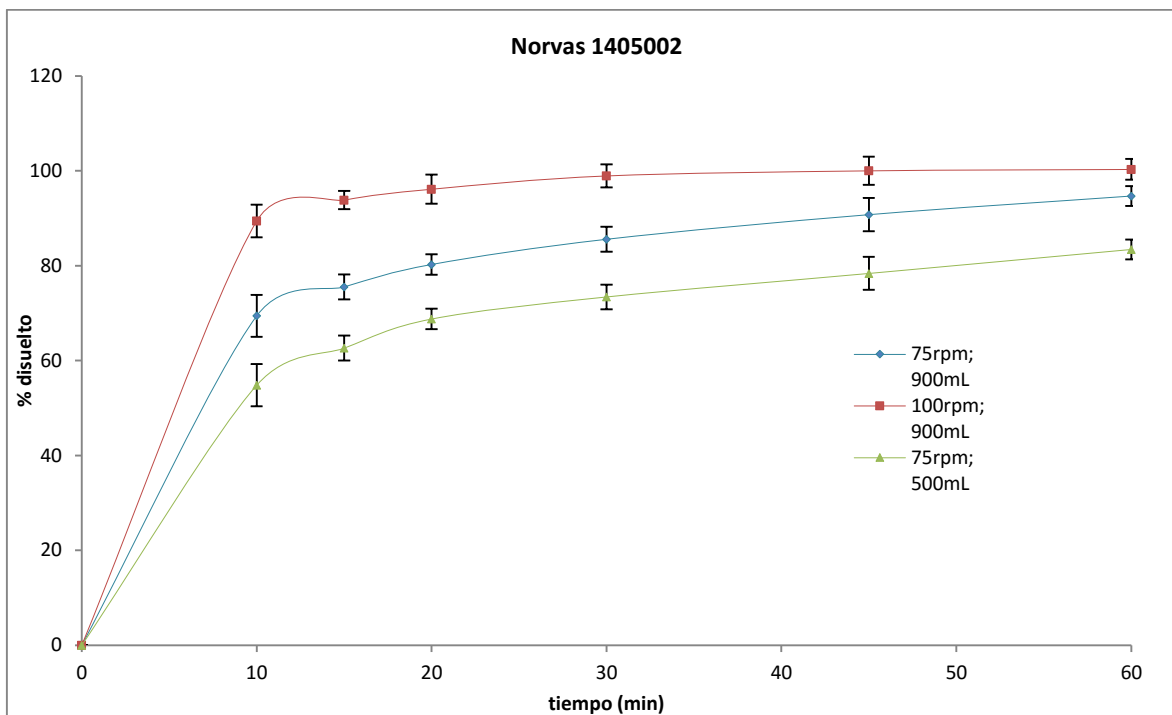


Figura 12. Perfiles de Disolución del lote 2 (1405002) a diferentes condiciones de disolución.

Tabla 13. Valores promedio del porcentaje disuelto vs tiempo del lote 2 a las diferentes condiciones estudiadas empleando el aparato 2.

Condiciones (agitación y volumen)						
Tiempo (min)	75rpm, 500mL		75rpm, 900mL		100rpm, 900mL	
	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV
10	54.81	8.76	69.42	1.54	89.42	3.22
15	62.63	9.51	75.53	3.04	93.83	3.87
20	68.77	9.28	80.26	2.90	96.12	4.08
30	73.42	7.92	85.58	2.54	98.92	3.81
45	78.38	6.89	90.76	1.28	99.99	4.22
60	83.43	5.76	94.69	2.34	100.29	3.65

Tabla 14. Comparación de los perfiles de disolución del lote 2 bajo las diferentes condiciones de disolución

Condiciones	f_2	Observaciones
500mL y 75rpm VS 900mL y 75 rpm	44.50	Perfiles no similares
500mL y 75rpm VS 900mL y 100 rpm	Un perfil de muy rápida disolución	Perfiles no similares
900mL y 75rpm VS 900mL y 100 rpm	Un perfil de muy rápida disolución	Perfiles no similares

En la tabla 13 se muestran los porcentajes promedio disueltos a cada tiempo de muestreo con sus respectivos coeficientes de variación los cuales cumplen con el criterio de aceptación.

Al comparar los perfiles de disolución obtenidos bajo las diferentes condiciones de volumen y velocidad de agitación se encontró que con solo aumentar el volumen del medio de 500mL a 900mL y dejando fija la velocidad de agitación a 75 rpm fue suficiente para obtener una diferencia significativa entre los perfiles de disolución ($f_2=44$) como se muestra en la tabla 14, lo cual difiere de lo obtenido en el primer lote analizado (tabla 12). Cuando se cambia el método por canasta se obtuvo un perfil de disolución clasificado como de muy rápida disolución lo cual concuerda con los resultados obtenidos para Lote 1.

4.3.3 Perfiles de disolución del Lote 3 (1405003)

Con el fin de asegurar que el medicamento de referencia presentaba resultados consistentes, se analizó un tercer lote de Norvas con 6 unidades. En la figura 13 se muestran los resultados obtenidos de los perfiles de disolución bajo las condiciones indicadas en la tabla 2. En la tabla 15 se muestran los porcentajes promedio disueltos del lote 3.

Al comparar los perfiles con la velocidad de agitación de 75 rpm con paletas y un aumento en el volumen del medio de disolución se obtiene una f_2 igual a 36 por lo que se considera que los perfiles son significativamente diferentes y que el aumento del volumen de medio es suficiente para aumentar la disolución del amlodipino (ver tabla 16), resultado obtenido para el lote 2 de Norvas, pero no concuerda con lo obtenido para el lote 1. Cuando se aumenta el volumen de medio a 900 mL y se cambia el método de agitación a 100 rpm con canastas se obtiene un perfil de rápida disolución lo cual concuerda con los lotes 1 y 2 de Norvas previamente analizados.

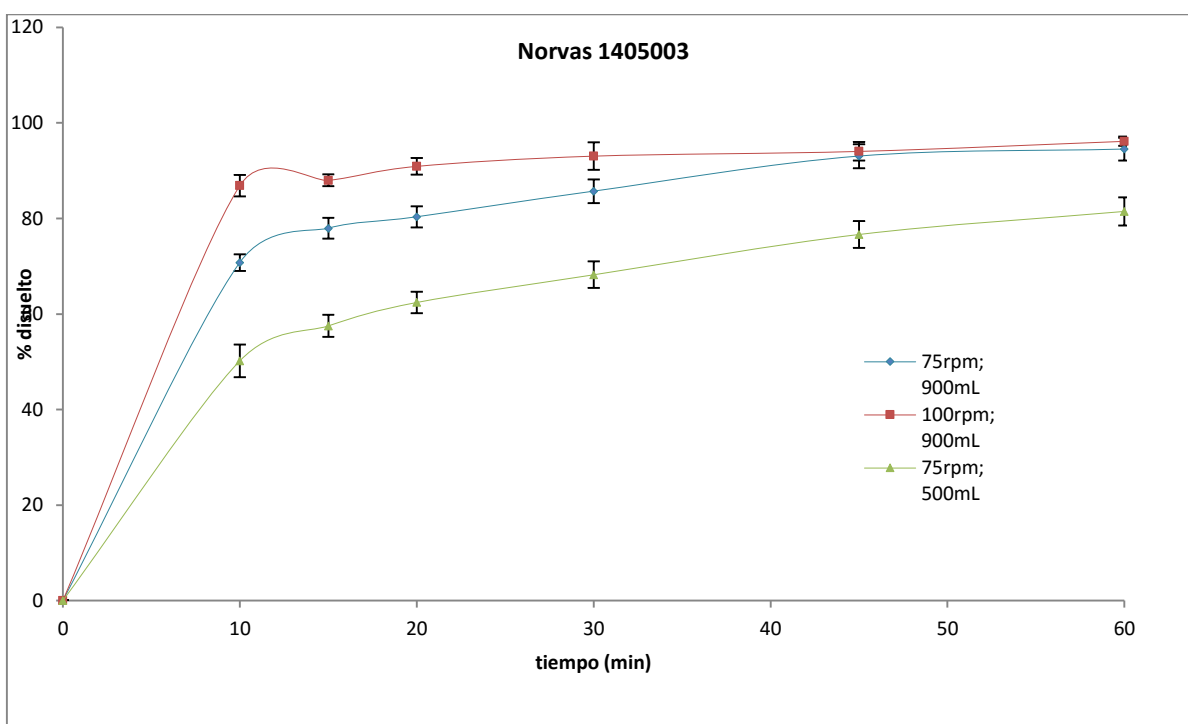


Figura 13. Perfiles de Disolución para el lote 3 a diferentes condiciones de disolución

Tabla 15. Valores promedio del porcentaje disuelto vs tiempo del lote 3 a las diferentes condiciones estudiadas

		Condiciones (agitación y volumen)				
Tiempo (min)	75rpm, 500mL		75rpm, 900mL		100rpm, 900mL	
	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV
10	50.19	6.78	70.76	2.47	86.89	2.57
15	57.52	4.04	77.95	2.77	88.00	1.44
20	62.43	3.61	80.34	2.72	90.93	1.91
30	68.22	4.07	85.70	2.87	93.08	3.08
45	76.67	3.65	93.04	2.69	94.06	2.08
60	81.50	3.62	94.51	2.49	96.18	0.98

Tabla 16. Comparación de los perfiles de disolución para NORVAS 1405003 por medio del factor de similitud f2.

Condiciones	f ₂	Observaciones
500mL y 75rpm VS 900mL y 75 rpm	35.87	Perfiles no similares
500mL y 75rpm VS 900mL y 100 rpm	Un perfil de muy rápida disolución	Perfiles no similares
900mL y 75rpm VS 900mL y 100 rpm	Un perfil de muy rápida disolución	Perfiles no similares

En base a los resultados obtenidos para los 3 lotes analizados del medicamento de referencia, las mejores condición de disolución para obtener resultados consistentes son utilizando 900mL de medio de disolución y 100 rpm (aparato 1) ya que en los tres lotes se obtuvo un perfil de muy rápida disolución.

4.3.4 Perfiles de disolución del Lote SA1538 de ANGIODAL

Dado que en este trabajo se trataba de encontrar las condiciones bajo las cuales los resultados *in vitro* a un pH de 6.8 reflejaran los resultados *in vivo*, se evaluó el perfil de disolución del medicamento de prueba Angiodal el cual fue bioequivalente con el producto Norvas, bajo las condiciones indicadas en la tabla 2

En la figura 14 se muestran los resultados obtenidos de los perfiles de disolución del medicamento de prueba Angiodal con lote SA1538 en la cual al aumentar el volumen de medio de disolución de 500mL a 900 mL el comportamiento fue muy parecido. En la tabla 17 se muestran los porcentajes disueltos promedio de Angiodal con sus respectivos coeficientes de variación cumpliendo con el criterio de aceptación para cada tiempo. Los resultados de factor de similitud mostraron una f_2 igual a 60 entre los perfiles obtenidos con paletas utilizando 500 mL y 900 mL de medio, lo que confirma que los perfiles son significativamente similares, sin embargo cuando se utilizan el método de canasta, se obtiene un perfil de muy rápida disolución.

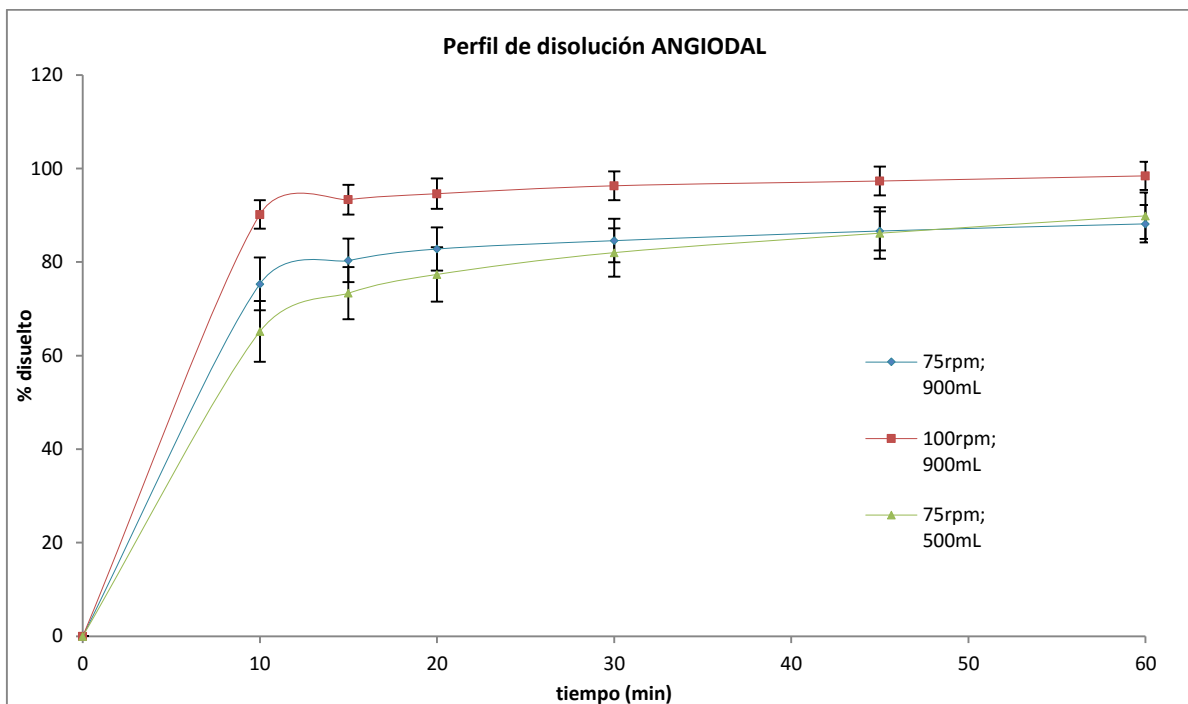


Figura 14. Perfiles de Disolución para Angiodal SA1538 a diferentes condiciones de disolución

Tabla 17. Valores promedio de porcentaje disuelto vs tiempo de Angiodal SA1538 a las diferentes condiciones estudiadas

Tiempo (min)	Condiciones (agitación, volumen)					
	75rpm, 500mL		75rpm, 900mL		100rpm, 900mL	
	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV
10	65.16	10.00	75.32	7.50	90.16	3.37
15	73.37	7.60	80.34	5.79	93.34	3.41
20	77.38	7.51	82.81	5.58	94.61	3.44
30	82.04	6.26	84.59	5.48	96.30	3.17
45	86.19	6.40	86.66	4.83	97.32	3.17
60	89.90	5.49	88.18	4.54	98.42	3.04

Tabla 18. Comparación de los perfiles de disolución para Angiodal SA1538 por medio del factor de similitud f_2 .

Condiciones	f_2	Observaciones
500mL y 75rpm VS 900mL y 75 rpm	60.35	Perfiles similares
500mL y 75rpm VS 900mL y 100 rpm	Un perfil de muy rápida disolución	Perfiles no similares
900mL y 75rpm VS 900mL y 100 rpm	Un perfil de muy rápida disolución	Perfiles no similares

4.3.5 Comparación de perfiles de disolución obtenidos con una velocidad de agitación de 75 rpm y 500 mL de medio

Los criterios de la FDA para bioexención empleando la prueba de disolución refieren utilizar 500mL de medio a 50 o 75 rpm con el aparato de paletas o 100 rpm con el aparato de canastas.

En la figura 15 se muestran los perfiles de disolución obtenidos utilizando 500 mL de medio y con una velocidad de agitación de 75 rpm utilizando el aparato de paletas. En ella se puede observar que a los 30 minutos no se disolvió el 85 % del fármaco en ninguno de los productos evaluados, lo cual también se observa en la tabla 19.

Cuando se comparan los lotes de Norvas a esta condición el lote 3 tiene una disolución más lenta en comparación con los lotes anteriores lo que provoca que exista una diferencia significativa entre el lote 1 y el lote 3, de la misma manera al comparar el lote 3 con el lote de Angiodal los perfiles resultan ser no similares.

De acuerdo a estos resultados se confirma que bajo estas condiciones de disolución, establecidas por la FDA, el perfil obtenido no refleja los resultados obtenidos *in vivo* y el amlodipino no sería candidato para bioexención al no obtener perfiles de rápida disolución.

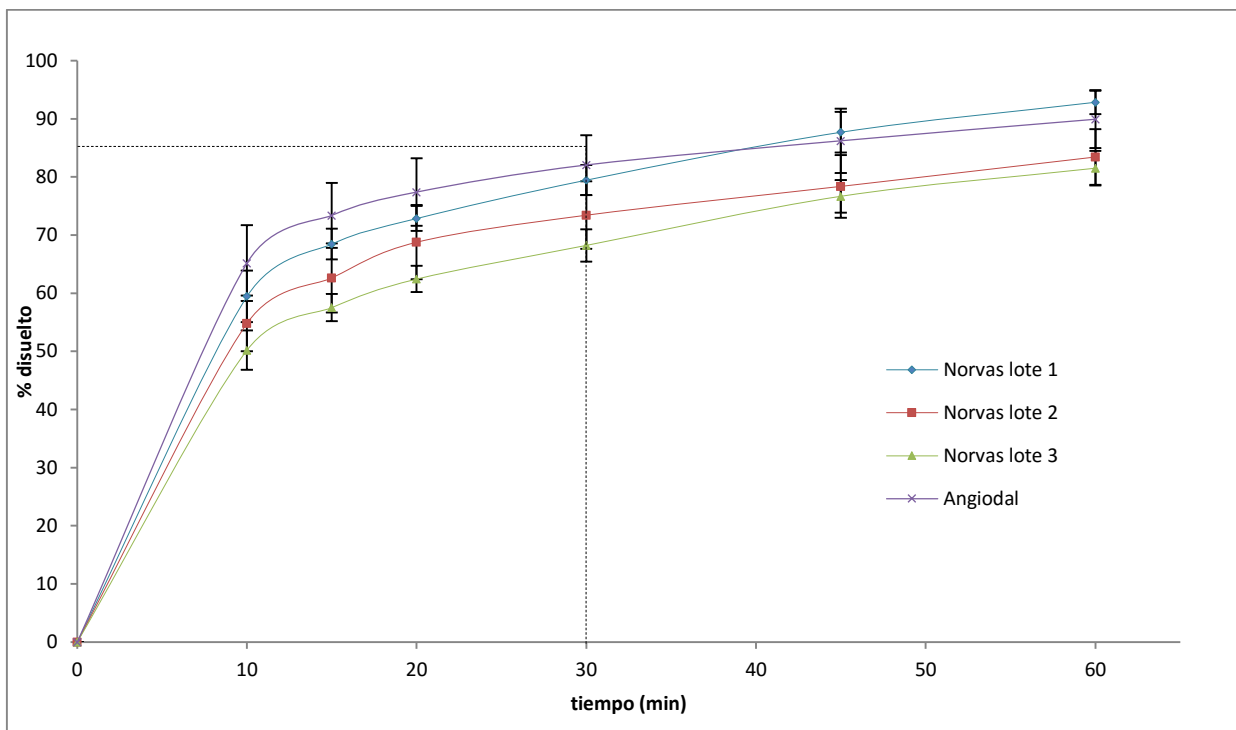


Figura 15. Perfiles de disolución de los diferentes lotes bajo estudio, utilizando una velocidad de agitación de 75 rpm y 500 mL de medio de disolución.

Tabla 19. Resultados promedio de porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo al utilizar 75 rpm y 800 mL de medio.

Tiempo (min)	Condiciones (agitación, volumen)							
	Norvas Lote 1		Norvas Lote 2		Norvas Lote 3		Angiodal	
	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV
10	59.45	7.48	54.81	8.76	50.19	6.78	65.16	10.00
15	68.46	3.87	62.63	9.51	57.52	4.04	73.37	7.60
20	72.86	2.95	68.77	9.28	62.43	3.61	77.38	7.51
30	79.46	3.28	73.42	7.92	68.22	4.07	82.04	6.26
45	87.70	3.98	78.38	6.89	76.67	3.65	86.19	6.40
60	92.86	2.25	83.43	5.76	81.50	3.62	89.90	5.49

Tabla 20. Comparación entre los perfiles de disolución utilizando 75 rpm y 500 mL de medio.

Comparación	Factor de similitud (f2)	Similares
Norvas 1 VS Norvas2	59.92	Si
Norvas 1 VS Norvas3	48.64	No
Norvas 2 VS Norvas 3	66.84	Si
Norvas 1 VS Angiodal	68.48	Si
Norvas 2 VS Angiodal	52.42	Si
Norvas 3 VS Angiodal	43.85	No

4.3.6 Comparación de perfiles de disolución obtenidos con una velocidad de agitación de 75 rpm y 900 mL de medio

Los criterios establecidos por la OMS para bioexención utilizando perfiles de disolución son, 900 mL de medio y 75 rpm con el aparato de paletas o 100 rpm con el aparato de canastas.

En la figura 16 se muestran los perfiles de disolución obtenidos utilizando 900 mL de medio y con una velocidad de agitación de 75 rpm utilizando el aparato de paletas. En ella al igual que en la tabla 21 se puede observar que el promedio del porcentaje disuelto a los 30 minutos de todos los lotes del medicamento innovador es mayor al 85 % por lo que se consideran perfiles de rápida disolución, para el

perfil obtenido con el medicamento de prueba a los 30 minutos el porcentaje disuelto es menor del 85 %.

En la tabla 22 se muestra la comparación entre todos los perfiles obtenidos tanto del medicamento de referencia como del medicamento de prueba resultado que los lotes de Norvas son similares entre ellos lo que indica una consistencia de lote a lote contrario a lo obtenido en la condición de 500 mL y 75 rpm, además al comparar cada lote de Norvas con el lote evaluado de Angiodal se obtienen perfiles que son similares entre ellos.

Por lo anterior esta condición refleja los resultados obtenidos *in vivo* entre el medicamento de prueba y el medicamento de referencia debido a que son similares. Pero al no obtener un perfil de rápida disolución con el medicamento de prueba bajo estas condiciones, el medicamento de prueba (angiodal) no cumple os requerimientos para bioexención, aunque cabe resaltar que a los 15 minutos se disolvió cerca del 85 % lo que podría dar pauta a probar otro lote de este medicamento o realizar la prueba con otro medicamento que previamente demostrara su bioequivalencia.

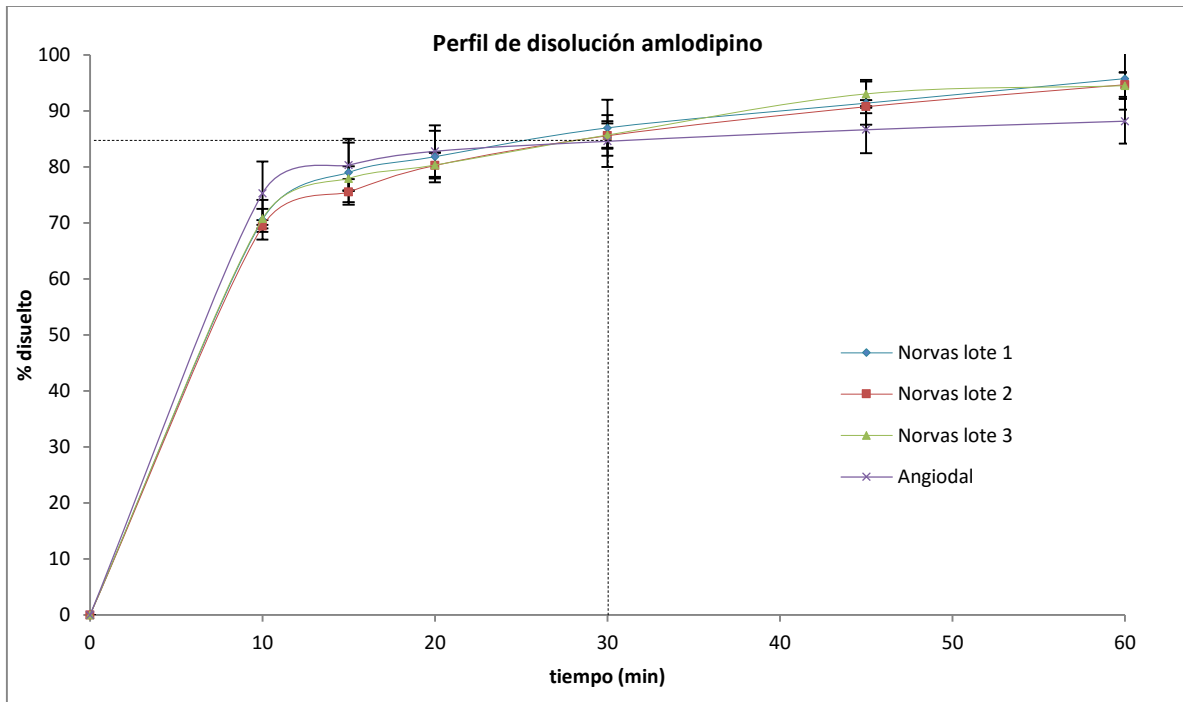


Figura 16. Perfiles de disolución obtenidos utilizando 75 rpm y 900 mL de medio.

Tabla 21. Resultados promedio de porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo utilizando 75 rpm y 900 mL de medio.

Tiempo (min)	Condiciones (agitación, volumen)							
	Norvas Lote 1		Norvas Lote 2		Norvas Lote 3		Angiodal	
	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV
10	70.58	5.02	69.42	1.54	70.76	2.47	75.32	7.50
15	79.01	6.71	75.53	3.04	77.95	2.77	80.34	5.79
20	81.84	5.61	80.26	2.90	80.34	2.72	82.81	5.58
30	86.98	5.73	85.58	2.54	85.70	2.87	84.59	5.48
45	91.39	4.22	90.76	1.28	93.04	2.69	86.66	4.83
60	95.77	5.78	94.69	2.34	94.51	2.49	88.18	4.54

Tabla 22. Comparación entre los perfiles de disolución utilizando 75 rpm y 900 mL de medio.

Comparación	Factor de similitud (f2)	Similares
Norvas 1 VS Norvas2	81.53	Si
Norvas 1 VS Norvas3	91.12	Si
Norvas 2 VS Norvas 3	88.38	Si
Norvas 1 VS Angiodal	73.34	Si
Norvas 2 VS Ang	69.04	Si
Norvas 3 VS Angiodal	75.62	Si

4.3.7 Comparación de perfiles de disolución obtenidos con una velocidad de agitación de 100 rpm y 900 mL de medio

Las condiciones establecidas por la OMS antes mencionadas aplican para esta condición, al igual que las establecidas por la EMA la cual indica que los perfiles deben realizarse utilizando 900mL de medio y 50 rpm con el aparato de paletas o 100 rpm con el aparato de canastas.

En la figura 17 se muestran los perfiles de disolución obtenidos utilizando 900 mL de medio y una velocidad de agitación de 100 rpm con el aparato 1 USP. En ella al igual que en la tabla 23 se puede observar que el promedio del porcentaje disuelto a los 15 minutos tanto del medicamento innovador como del medicamento de prueba es mayor al 85% por lo que se consideran perfiles de muy rápida disolución. Y por lo tanto se considera que todos los perfiles son similares y no es necesario realizar la comparación entre ellos por medio del factor de similitud f_2 (ver tabla 24), esto demuestra nuevamente una consistencia entre lote y lote de Norvas y la similaridad entre Norvas y Angiodal.

Esta condición, al igual que 900 mL de medio y 75 rpm, también refleja los resultados obtenidos *in vivo* ya que los resultados *in vitro* indican una similitud entre los perfiles de Norvas y el perfil de Angiodal obteniendo perfiles de muy rápida disolución por lo que bajo esta condición si se podría considerar una bioexención, realizando perfiles de disolución a 3 pH's.

Se observa en la figura 17 que los perfiles a partir del cuarto tiempo de muestreo no presentan un aumento muy grande del porcentaje disuelto por lo que para acortar el tiempo de la prueba podría no muestrearse el último punto.

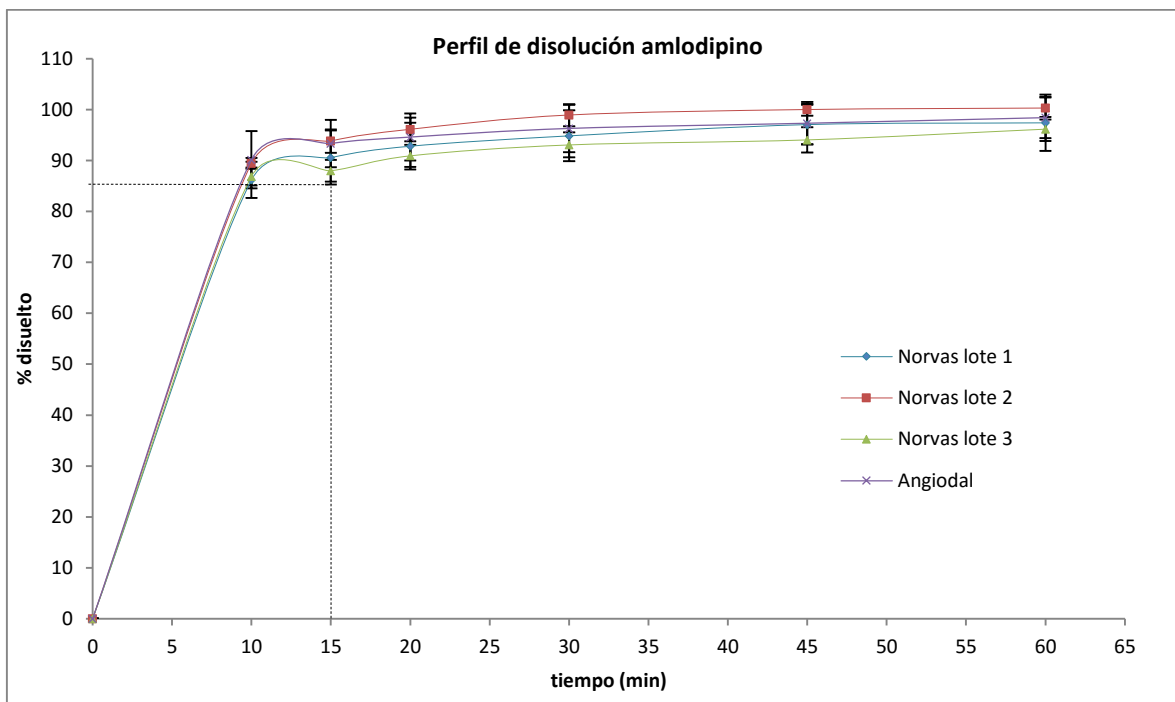


Figura 17. Perfiles de disolución obtenidos utilizando 100 rpm y 900 mL de medio.

Tabla 23. Resultados promedio de porcentaje disuelto a los diferentes tiempos de muestreo empleando 100 rpm y 900 mL de medio.

Tiempo (min)	Condiciones (agitación, volumen)							
	Norvas Lote 1		Norvas Lote 2		Norvas Lote 3		Norvas Lote 3	
	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV	% Disuelto (Promedio)	% CV
10	86.20	4.01	89.42	3.22	86.89	2.57	90.16	3.37
15	90.59	2.10	93.83	3.87	88.00	1.44	93.34	3.41
20	92.83	3.33	96.12	4.08	90.93	1.91	94.61	3.44
30	94.86	2.58	98.92	3.81	93.08	3.08	96.30	3.17
45	97.07	3.06	99.99	4.22	94.06	2.08	97.32	3.17
60	97.42	2.25	100.29	3.65	96.18	0.98	98.42	3.04

Tabla 24. Comparación entre los perfiles de disolución utilizando 100 rpm y 900 mL de medio.

Comparación	Factor de similitud (f2)	Similares
Norvas 1 VS Norvas2	Perfil de muy rápida disolución	Si
Norvas 1 VS Norvas3	Perfil de muy rápida disolución	Si
Norvas 2 VS Norvas 3	Perfil de muy rápida disolución	Si
Norvas 1 VS Angiodal	Perfil de muy rápida disolución	Si
Norvas 2 VS Ang	Perfil de muy rápida disolución	Si
Norvas 3 VS Angiodal	Perfil de muy rápida disolución	Si

De acuerdo con los resultados anteriores el aparato de canastas refleja de mejor manera los resultados in vivo a pH de 6.8 obteniéndose perfiles de muy rápida disolución y bajo estas condiciones se puede lograr que el amlodipino sea candidato a bioexención. Bajo estas condiciones se tendría que tener cuidado al realizar los perfiles de disolución ya que el material del aparato es propenso a ser deteriorado por el uso de ácido clorhídrico.

Aunque en México la bioexención aún no es aplicable, este tipo de estudios podría dar la pauta para desarrollar este ámbito y así poder disminuir los costos del desarrollo de medicamentos.

5 CONCLUSIONES

1. El método analítico para la cuantificación de amlodipino para perfiles de disolución demostró ser lineal, preciso, exacto, selectivo, no existe influencia significativa del filtro y las muestras son estables en por lo menos 24 horas.
2. Al utilizar las condiciones establecidas por la FDA (500 mL y 75 rpm con paletas) los productos no se comportaron como de rápida disolución, por lo que a estas condiciones al amlodipino no sería candidato para bioexención, además de obtener perfiles diferentes entre los lotes de Norvas.
3. Bajo las condiciones establecidas por la OMS (900mL y 75 rpm con paletas) se obtienen perfiles similares entre Norvas y Angiodal, además de obtener resultados consistentes entre los lotes de Norvas. Solo el medicamento de referencia cumple con el criterio de rápida disolución por lo que bajo estas condiciones no aplicaría la bioexención.
4. Bajo las condiciones establecidas por la OMS y la EMA (900 mL y 100 rpm con canastas) se obtiene perfiles de muy rápida disolución tanto para Norvas como para Angiodal, por lo que se puede considerar que esta metodología sería la más adecuada para la bioexención.

6 Bibliografía

1. GL. Amidon, H. Lenernas, VP. Shah, JR. Crison. A theoretical basis for a biopharmaceutics drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res.* 12 (1995) 413-420.
2. R Alfonso. Remington: Farmacia. 20a edición. Editorial Médica Panamericana, Vol. 1 (2003) 764-767.
3. D. Suvakanta, N. Padala, N. Lilakanta, C. Prasanta. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Pharmaceutical Society Drug Researc.* 67 (2010) 217-223.
4. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 11a Ed. 2014. Secretaría de Salud. México, pp. 312-320, 2402-2403.
5. S. Leonel, W. Susanna, B.C Andrew, Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. 5a edición. U.S.A : McGraw-Hill (2005) 413-414.
6. G. Sana A. Muhammad, A. Fakhsheena, M. Tasawer. Factors influencing the dissolution testing of drugs, *Pak. J. Health Research*, 1 (2013) 01-11.
7. Evaluation of hydrodynamics in the basket dissolution apparatus using computational fluid dynamics--dissolution rate implications. *Eur J Pharm Sci.* 27(2006) 259-67
8. M. Morihara, N. Aoyagi, N. Kaniwa, N. Katori & S. Kojim Hydrodynamic flows around tablets in different pharmacopeial dissolution tests. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 28 (2002) 655-662.
9. M. Kamba, S. Yasuo, N. Takeda, et al. Measurement of agitation force in dissolution test and mechanical destructive force in disintegration test. *Int J Pharm.* 205 (2003) 99-109

10. A.M. Healy, L.G. McCarthy, K.M. Gallagher, O.I. Corrigan. Sensitivity of dissolution rate to location in the paddle dissolution apparatus. *J Pharm Pharmacol.* 54 (2002) 441-444.
11. J. Kukura, PE. Arratia, ES. Szalai, FJ. Muzzio. Engineering tools for understanding the hydrodynamics of dissolution tests. *Drug Dev Ind Pharm.* 29 (2003) 231-239.
12. J. Kukura, J.L. Baxter, F.J. Muzzio. Shear distribution and variability in the USP Apparatus 2 under turbulent conditions. *Int J Pharm.* (2004) 9-17
13. A. Scholz, E. Kostewicz, B. Abrahamsson, J.B. Dressman. Can the USP paddle method be used to represent in-vivo hydrodynamics? *J Pharm Pharmacol.* 55 (2003) 443-451.
14. FDA. Guidance for Industry: Waiver of in vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutical Classification System. Rockville (MD): Food and Drug Administration; 2015.
15. WHO. General notes on Biopharmaceutics Classification System (BCS)-based biowaiver applications: World Health Organization; 2014.
16. EMA. Guideline on the investigation of bioequivalence: European Medicines Agency; 2010.
17. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-177- SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad.

18. WHO Model List of Essential Medicines. World Health Organization; 18th edition, 2015
19. Cuadro Básico y Catálogo de Medicamentos. México: Consejo de Salubridad General, 2014.
20. I. E. Shohin, G. V. Ramenskaya, G. F. Vasilenko, E. A. Malashenko. In Vitro dissolution kinetics of amlodipine tablets marketed in Russia under biowaiver conditions. *Dissolution Technologies* (2010) 20-22.
21. SEGOB. Diario Oficial de la federación. Acuerdo que determina el tipo de prueba para demostrar intercambiabilidad de medicamentos genéricos (2014). <http://www.dof.gob.mx/notadetalle.php?codigo=5354098&fecha=28/07/2014>
Citadp 01/10/2015
22. P.A. Meredith, H.L. Elliott, Clinical pharmacokinetics of amlodipine, *Clin. Pharmacokin.* 22 (1992) 22–31.
23. V. Koradia, H. Lopez de Diego, K. Frydenvang, M. Ringkjøbing-Elema, A. Müllerertz, A.D. Bond, J. Rantanen, Solid forms of amlodipine besylate: physicochemical, structural, and thermodynamic characterization, *Cryst. Growth Des.* 10 (2010) 5279–5290.
24. Y. Jiang, L. Fang, X. Niu, R. Ma, Z. He, The effect of ion pairing on the skin permeation of amlodipine, *Pharmazie* 63 (2008) 356–360.
25. The Merck Index, an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, 14th ed., Merck & Co., Inc, Whitehouse Station, NJ, 2006 monograph 491, p. 83.

26. G. Ragno, A. Garofalo, C. Vetuschi, Photodegradation monitoring of amlodipine by derivative spectrophotometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 27 (2002) 19–24.

27. A. Abdoh, M.M. Al-Omari, A.A. Badwan, A.M.Y. Jaber, Amlodipine besylate excipients interaction in solid dosage form, *Pharm. Dev. Technol.* 9 (2004) 15–24.

28. Pfizer. Norvas, Ficha técnica o resumen de las características del producto (2015) www.pfizer.es/para/profesionales_sanitarios/medicamentos/norvas.html

Consultado: 02/10/2015

29. D.M. Williams, L.X. Cubeddu, Amlodipine pharmacokinetics in healthy volunteers, *J. Clin. Pharmacol.* 28 (1988) 990–994.

30. J.K. Faulkner, D. McGibney, L.F. Chasseaud, J.L. Perry, I.W. Taulor, The pharmacokinetics of amlodipine in healthy volunteers after single intravenous and oral doses and after 14 repeated oral doses given once daily, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 22 (1986) 21–25.

31. M. Josefsson, AL. Zackrisson, J. Ahlner. Effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of amlodipine in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*, 51 (1996) 189–93.

32. T. Pant*, K. Mishr, RK. Subed. In vitro studies of amlodipine besylate tablet and comparison with foreign brand leader in Nepal. *IJPSR*. 4 (2013) 3958-3964.

33. COFEPRIS. Listado de Medicamentos de referencia. Secretaria de Salud, 2013.

34. FDA. Norvasc (amlodipine besylate) tablet. U.S. Food and Drug Administration, 2015.

<http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/ucm204020.htm>

Consultado: 05/10/15

35. Amlodipine Besilate Tablets. The United States Pharmacopeial. Revisión Bolletín. 2011

http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/amlodipineBesylateTabletsm3575.pdf

36. Soriano Razo Claudia Marisol. Evaluación de perfiles de disolución de productos comerciales conteniendo amlodipino a 3 pH's. Tesis, UNAM. Facultad de Química. 2009

7 Apéndice A. Perfiles de Disolución

1. Lote 1 de NORVAS

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos para cada unidad analizada del Lote 1 de NORVAS así como las curvas de calibración utilizadas para cada análisis.

1.1 Perfil de disolución utilizando 75 rpm y 500 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8

Tabla A.1 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote 1 de Norvas a 500 mL y 75 rpm.

Tiempo (min)	% Disuelto											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10	57.287	71.582	53.388	57.287	61.835	59.886	60.536	61.186	57.937	57.287	57.287	57.937
15	64.363	72.868	64.967	70.152	71.484	68.248	65.682	69.548	68.872	66.293	68.866	70.159
20	69.450	75.408	70.691	73.329	75.934	75.246	70.133	72.088	71.412	72.654	73.953	73.972
30	77.630	81.695	75.719	78.987	79.701	80.903	75.161	77.116	79.591	82.723	81.501	82.781
45	83.220	85.413	81.934	83.953	88.409	85.869	89.485	90.192	89.548	92.055	92.081	90.241
60	93.063	92.786	88.691	91.326	94.547	93.242	91.918	90.772	93.215	96.956	94.513	93.291

1.2 Perfil de disolución utilizando 75 rpm y 900 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8

Tabla A.2 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote 1 de Norvas a 900 mL y 75 rpm.

Tiempo (min)	% Disuelto											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10	75.482	70.913	72.055	77.766	65.773	70.913	69.771	71.484	65.202	68.628	69.771	69.200
15	86.231	82.800	80.534	86.242	83.910	82.800	75.979	75.420	71.413	74.270	73.140	75.408
20	89.004	85.011	86.700	80.544	87.250	85.011	80.453	78.764	75.889	79.874	75.356	78.188
30	92.319	90.575	91.701	94.535	88.881	89.452	85.458	83.771	79.774	84.879	79.241	83.195
45	97.286	96.659	94.434	92.799	92.175	92.745	90.429	89.301	88.658	90.968	83.657	87.609
60	103.328	99.926	100.478	101.065	96.000	102.122	91.479	93.128	93.595	91.462	85.822	90.881

1.3 Perfil de disolución utilizando 100 rpm y 900 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8.

Tabla A.3 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote 1 de Norvas a 900 mL y 100 rpm.

Tiempo (min)	% Disuelto											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10	80.333	87.352	87.937	90.277	87.937	84.428	82.006	87.870	92.562	84.938	84.938	83.765
15	87.850	93.121	92.542	91.972	91.379	91.361	87.838	90.786	92.562	89.020	90.187	88.431
20	91.848	96.537	97.694	97.124	92.482	93.043	88.418	91.946	94.302	90.760	88.447	91.330
30	91.792	97.628	98.209	97.640	95.877	96.437	91.301	94.829	96.032	93.067	92.484	93.060
45	95.165	102.713	101.006	100.437	98.103	96.376	94.168	95.976	97.752	93.640	95.351	94.207
60	95.670	98.095	100.939	100.939	98.606	98.586	94.738	97.117	98.322	95.351	95.921	94.777

Tabla A.4 Curvas de calibración utilizadas para el lote 1 de Norvas

Concentración µg/mL	75 rpm y 500 mL		75 rpm y 900 mL		100 rpm y 900 mL	
	Absorbancia Unidades 1-6	Absorbancia Unidades 7-12	Absorbancia Unidades 1-6	Absorbancia Unidades 7-12	Absorbancia Unidades 1-6	Absorbancia Unidades 7-12
1	0.030	0.030	0.031	0.031	0.030	0.030
2	0.060	0.061	0.062	0.061	0.060	0.061
4	0.121	0.120	0.123	0.124	0.120	0.120
5	0.154	0.153	0.157	0.155	0.154	0.154
7	0.214	0.215	0.22	0.217	0.214	0.214
r ²	0.9999	0.9998	0.99979	0.99997	0.99974	0.99973
m	0.0308	0.0308	0.0315	0.0311	0.0308	0.0307
b	- 0.0012	- 0.0012	- 0.0012	- 0.0005	- 0.0013	-0.0008

2. Lote 2 NORVAS

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos para cada unidad analizada del Lote 2 de Norvas así como las curvas de calibración utilizadas para cada análisis.

2.1 Perfil de disolución utilizando 75 rpm y 500 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8 del Lote 2 de Norvas.

Tabla A.5 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote 2 de Norvas a 500 mL y 75 rpm

Tiempo (min)	%Disuelto											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10	57.038	61.584	50.544	53.791	62.882	49.895	50.213	56.692	54.749	49.565	50.861	59.932
15	58.967	66.727	67.902	71.149	66.097	70.467	57.910	59.899	63.087	52.131	55.992	61.215
20	64.688	69.266	74.259	81.324	69.272	78.097	66.794	66.243	68.795	59.745	61.701	65.018
30	68.455	74.291	78.024	83.198	74.298	83.750	68.037	70.629	75.066	66.646	67.974	70.662
45	77.785	80.503	84.234	85.666	76.145	86.219	76.103	76.206	81.264	70.980	69.197	76.238
60	83.306	84.789	90.370	93.035	80.433	87.418	79.150	80.484	84.308	77.107	80.864	79.901

2.2 Perfil de disolución utilizando 75 rpm y 900 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8 del Lote 2 de Norvas.

Tabla A.6 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote 2 de Norvas a 900 mL y 75 rpm

Tiempo (min)	% Disuelto											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10	70.023	71.182	68.864	67.705	70.023	68.864	69.211	68.632	69.790	70.948	69.790	68.052
15	75.746	75.752	73.436	73.430	74.018	81.503	77.236	73.777	74.935	76.093	73.783	76.654
20	79.714	80.866	79.696	77.971	79.132	85.467	78.909	79.461	78.327	78.339	81.185	84.055
30	83.654	86.514	84.206	84.762	85.922	88.834	81.139	84.538	87.392	87.403	84.553	87.990
45	89.266	92.692	89.818	91.507	90.399	91.043	89.581	90.713	89.601	92.444	90.162	91.898
60	92.023	98.264	93.139	96.516	96.536	96.616	91.210	94.031	96.298	95.197	92.353	94.088

2.3 Perfil de disolución utilizando 100 rpm y 900 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8 del Lote 2 de Norvas.

Tabla A.7 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote 2 de Norvas a 900 mL y 100 rpm

Tiempo (min)	% Disuelto											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10	89.452	84.825	91.187	88.295	85.404	85.982	90.125	92.499	90.125	93.093	93.093	88.938
15	90.553	90.530	93.437	92.272	87.657	90.535	94.257	98.402	99.569	96.635	96.044	96.021
20	92.216	93.336	96.814	95.650	87.606	92.770	98.366	98.402	100.156	100.156	97.805	100.130
30	93.865	95.554	99.030	97.298	93.239	94.988	100.701	101.321	102.491	103.659	102.475	102.465
45	93.240	97.189	100.097	99.497	94.310	94.362	104.763	103.062	103.652	103.659	102.475	103.626
60	96.551	97.687	99.468	98.868	95.372	94.861	104.763	103.062	103.652	105.390	101.898	101.894

Tabla A.8 Curvas de calibración utilizadas para el lote 2 de Norvas

Concentración µg/mL	75 rpm y 500 mL		75 rpm y 900 mL		100 rpm y 900 mL	
	Absorbancia Unidades 1-6	Absorbancia Unidades 7-12	Absorbancia Unidades 1-6	Absorbancia Unidades 7-12	Absorbancia Unidades 1-6	Absorbancia Unidades 7-12
1	0.030	0.030	0.031	0.031	0.030	0.031
2	0.060	0.061	0.061	0.061	0.060	0.061
4	0.121	0.120	0.122	0.124	0.122	0.124
5	0.154	0.153	0.155	0.155	0.155	0.154
7	0.214	0.215	0.217	0.217	0.216	0.212
r ²	0.9999	0.9998	0.9999	0.9999	0.9999	0.9997
m	0.0308	0.0308	0.0311	0.0311	0.0311	0.0303
b	- 0.0012	- 0.0012	-0.0008	- 0.0005	-0.0017	0.0012

3. Lote 3 Norvas

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos para cada unidad analizada del Lote 3 de Norvas así como las curvas de calibración utilizadas para cada análisis.

3.1 Perfil de disolución utilizando 75 rpm y 500 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8 del Lote 3 de Norvas.

Tabla A.9 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote 3 de Norvas a 500 mL y 75 rpm

Tiempo (min)	% Disuelto					
	V1	V2	V3	V4	V5	V6
10	0.119	0.125	0.116	0.119	0.120	0.121
15	0.129	0.133	0.127	0.137	0.134	0.134
20	0.131	0.134	0.135	0.140	0.139	0.140
30	0.141	0.143	0.143	0.152	0.147	0.149
45	0.157	0.155	0.159	0.167	0.158	0.156
60	0.164	0.158	0.160	0.168	0.161	0.157

Poner todas las curvas de calibración en una sola tabla

3.2 Perfil de disolución utilizando 75 rpm y 900 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8 del Lote 3 de Norvas.

Tabla A.10 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote 3 de Norvas a 900 mL y 75 rpm

Tiempo (min)	% Disuelto					
	V1	V2	V3	V4	V5	V6
10	70.169	73.707	68.400	70.169	70.759	71.348
15	75.994	78.357	74.812	80.685	78.929	78.932
20	77.116	78.894	79.433	82.387	81.798	82.384
30	82.867	84.065	84.023	89.294	86.387	87.552
45	92.038	90.929	93.194	97.885	92.673	91.532
60	95.990	92.588	93.705	98.393	94.331	92.044

3.3 Perfil de disolución utilizando 100 rpm y 900 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8 del Lote 3 de Norvas.

Tabla A.11 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote 3 de Norvas a 900 mL y 100 rpm

Tiempo (min)	Absorbancia					
	V1	V2	V3	V4	V5	V6
10	89.416	85.330	89.416	87.665	84.746	84.746
15	89.947	87.024	88.786	87.616	86.440	88.182
20	91.049	89.282	91.621	93.915	89.277	90.440
30	95.586	90.950	91.565	95.006	89.222	96.125
45	95.525	93.746	92.077	95.516	91.448	96.063
60	97.163	94.818	95.421	96.020	96.495	97.134

Tabla A.12 Curvas de calibración utilizadas para el lote 3 de Norvas

Concentración µg/mL	75 rpm y 500 mL	75 rpm y 900 mL	100 rpm y 900 mL
	Absorbancia Unidades 1-6	Absorbancia Unidades 1-6	Absorbancia Unidades 1-6
1	0.031	0.030	0.031
2	0.062	0.061	0.061
4	0.124	0.123	0.124
5	0.153	0.153	0.153
7	0.215	0.213	0.216
r ²	0.99993	0.9999	0.9999
m	0.03061	0.0305	0.0308
b	0.00067	0.0000	- 0.0002

4. Lote SA1538 Angiodal

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos para cada unidad analizada del Lote SA1538 de Angiodal así como las curvas de calibración utilizadas para cada análisis.

4.1 Perfil de disolución utilizando 75 rpm y 500 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8 de Angiodal

Tabla A.13 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote SA1538 de Angiodal a 500 mL y 75 rpm

Tiempo (min)	% Disuelto											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10	64.549	69.695	63.905	55.542	65.835	66.479	70.660	72.614	60.891	56.332	76.521	58.937
15	68.370	76.701	73.459	72.738	73.478	84.312	75.173	75.837	64.760	64.069	77.166	74.411
20	74.037	78.585	81.017	77.775	76.623	87.456	77.080	78.382	67.944	66.616	80.349	82.700
30	77.143	82.938	85.993	84.624	80.539	90.559	80.855	80.262	73.616	74.815	86.650	86.474
45	80.208	91.559	88.438	87.686	81.565	96.090	85.832	81.488	77.345	83.545	89.125	91.449
60	84.454	98.245	90.847	89.484	86.422	98.496	90.128	88.880	81.645	87.223	90.945	92.031

4.2 Perfil de disolución utilizando 75 rpm y 900 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8 de Angiodal

Tabla A.14 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote SA1538 de Angiodal a 900 mL y 75 rpm

Tiempo (min)	% Disuelto											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10	81.901	84.761	81.901	69.887	68.743	69.887	78.611	72.809	76.290	71.069	78.031	69.908
15	85.269	88.696	86.406	75.537	73.825	76.675	80.875	79.692	80.286	77.952	82.603	76.216
20	87.482	90.342	89.750	78.888	75.479	79.459	84.270	80.793	82.534	79.628	84.849	80.187
30	89.116	93.099	91.383	82.214	77.683	81.098	84.789	82.455	83.054	81.291	87.079	81.850
45	89.618	94.717	91.884	84.399	79.871	82.165	86.436	86.373	86.972	84.075	89.292	84.066
60	91.227	95.766	93.491	86.011	80.930	84.891	88.070	87.443	87.478	85.147	89.797	87.958

4.3 Perfil de disolución utilizando 100 rpm y 900 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8 de Angiodal

Tabla A.15 Porcentajes disueltos de amlodipino para cada unidad analizada del Lote SA1538 de Angiodal a 900 mL y 100 rpm

Tiempo (min)	% Disuelto											
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12
10	91.023	91.612	92.202	86.899	87.488	88.078	92.800	96.269	86.440	87.018	89.909	92.221
15	95.660	96.249	97.423	93.881	88.612	90.958	96.250	93.394	88.164	89.893	93.934	95.671
20	96.769	96.775	97.949	95.574	89.142	91.487	96.821	97.968	90.452	90.464	95.077	96.815
30	99.027	96.716	99.048	97.833	93.143	93.749	99.664	99.105	91.589	91.602	95.646	98.521
45	99.540	97.806	100.136	100.075	94.812	95.993	99.664	99.670	92.154	91.602	96.776	99.651
60	99.473	98.313	100.642	102.299	96.467	96.502	102.475	99.108	93.840	93.288	97.901	100.775

Tabla A.12 Curvas de calibración utilizadas para Angiodal con lote SA1538

Concentración µg/mL	75 rpm y 500 mL		75 rpm y 900 mL		100 rpm y 900 mL	
	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia
	Unidades 1-6	Unidades 7-12	Unidades 1-6	Unidades 7-12	Unidades 1-6	Unidades 7-12
1	0.030	0.031	0.031	0.031	0.031	0.03
2	0.061	0.062	0.061	0.061	0.061	0.061
4	0.123	0.123	0.124	0.124	0.124	0.122
5	0.153	0.155	0.157	0.154	0.153	0.154
7	0.217	0.215	0.219	0.217	0.214	0.217
r ²	0.99992	0.99973	0.99990	0.99984	0.99989	0.99993
m	0.03109	0.98772	0.03146	0.98596	0.03055	0.03113
b	- 0.00133	0.00183	-0.00117	0.00066	0.00050	- 0.00150