



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

---

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE PROCESOS FARMACÉUTICOS:  
DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO  
PARA EVALUAR PERFILES DE DISOLUCIÓN DE  
CLORHIDRATO DE PROPAFENONA EN TABLETAS POR  
ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA**

**INFORME DE SERVICIO SOCIAL  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA  
PRESENTA  
NORMA AIDEE LUGO SANTOS**

**ASESORES: Dra. Raquel López Arellano  
QFB José Antonio Garduño Rosas**



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.  
 FACULTAD DE ESTUDIOS  
 SUPERIORES CUAUTITLÁN



DEPARTAMENTO DE  
 EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
 PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos :

El Informe de Servicio Social: Desarrollo y Validación de Procesos Farmacéuticos: Desarrollo y Validación de un Método Analítico para evaluar perfiles de disolución de clorhidrato de propafenona en tabletas por espectrofotometría ultravioleta.

que presenta la pasante: Norma Aidee Lugo Santos  
 con número de cuenta: 09606637-9 para obtener el título de :  
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 4 de Octubre de 2005

PRESIDENTE	<u>Q. Juan José Mendoza Flores</u>	
VOCAL	<u>DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez</u>	
SECRETARIO	<u>QFB. José Antonio Garduño Rosas</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Q. Elia Granados Enríquez</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>QBP. Martha Elena García Corrales</u>	

## *AGENDA DE LA FELICIDAD*

*La sonrisa es la tarjeta de visita de las personas  
saludables...*

*Distribúyela gentilmente.*

*El diálogo es el puente que nos une.*

*Transítalo bastante.*

*La alegría es el perfume gratificante, fruto del deber  
cumplido.*

*Derrámala, el mundo necesita de ella.*

*La conciencia es la mejor almohada para el  
sueño de la tranquilidad.*

*Vive en paz contigo mismo, con tus semejantes y  
con Dios.*

*La Fe en Dios es la brújula para los navíos errantes,  
perdidos, que buscan las playas de la eternidad.*

*Utilízala.*

*La esperanza es el buen viento que dirige las velas  
de nuestro barco.*

*Lámala para tu cotidiano vivir.*

*ANÓNIMO*

## *AGRADECIMIENTOS*

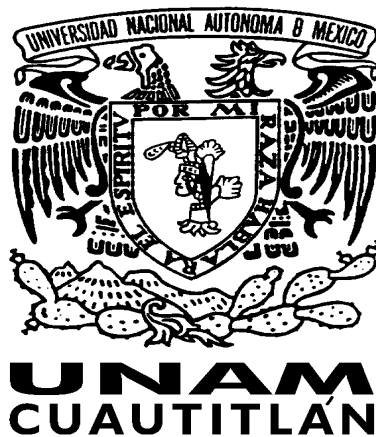
*A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme sus puertas, por todo lo que en ella he aprendido y por permitirme cumplir una de mis grandes metas.*

*A la Dra. Raquel López Arellano por la confianza, la ayuda y el apoyo que me ha brindado para realizar este trabajo y por permitirme pertenecer a su equipo de trabajo.*

*Al QFB José Antonio Garduño Rosas por su apoyo, paciencia y ayuda, pero sobre todo por compartir sus conocimientos para enriquecer y mejorar este trabajo.*

*A mis sinodales Q. Juan José Mendoza, DESS Rodolfo Cruz, Q. Elia Granados y QBP Martha Elena García por dedicar parte de su tiempo para la revisión de este trabajo y por las valiosas sugerencias y comentarios para mejorarlo.*

*Al DAR Juan José Díaz Esquivel por darme la confianza y el apoyo para formar parte de un gran equipo de trabajo, pero sobre todo por brindarme su amistad y dejarme descubrir que es una gran persona.*



## DEDICATORIAS

*A Dios por el maravilloso regalo de la vida, por iluminar mi camino, por guiar cada uno de mis pasos y por permitirme llegar a esta etapa en compañía de mi familia.*

*A mi madre porque tu fuerza y tu amor me han dirigido por la vida y me han dado las alas que necesitaba para volar. Eres una gran persona, mujer, amiga y mayor ejemplo a seguir, recuerda que Te Amo y que me siento muy orgullosa de ti y muy agradecida por tenerte como Madre... que Dios te bendiga.*

*A mi padre porque me has enseñado que puedes tropezar y caer muchas veces en la vida pero con amor y fe puedes levantarte y encontrar un nuevo camino para seguir. Recuerda siempre que Te Amo y que me siento muy orgullosa de ti... que Dios te bendiga.*

*A Claudia, Angélica y Gabriel por todas las alegrías, tristezas, pleitos, regaños, maldades, travesuras, gritos y... todo aquello que he compartido con ustedes, los quiero mucho y saben que siempre podrán contar conmigo.*

*A Tony, Josué y Amellaly porque sus risas, llanto, travesuras y amor son el mejor combustible que pueda tener para mi vida... pequeños los quiero y adoro con todo mi corazón...*

*Tal vez Dios ha querido que conozca a mucha gente diferente a lo largo de mi vida, para que cuando me acerque a los indicados sepa reconocerlos, valorarlos y agradecer al cielo por ellos. Gracias a las personitas que han decidido quedarse en mi vida como mis mejores amigos: Eli, Olga, Mirsha, Deisy, Mauricio, Rocío, Octavio, Jesús Zamora, Jesús Sánchez, Gaddiel, Juanita, Roberto y Nora.*

*A las personas que conocí en el LEM Farmacia y en quienes encontré apoyo y amistad: Adi, Lesli, Mashe, Lupita, Ara, Claus, Tere, Eli G., Enrique A., Vivi, Angel, Pablo, Pedro, Sr. Daniel, Miguel Ángel y especialmente a Oscar por su ayuda, paciencia y cariño.*

***“Disfrutar la vida con serenidad y sencillez permite enfrentar cada desafío con una enorme pasión”***

# CONTENIDO

<b>ÍNDICE GENERAL</b>	I
<b>ABREVIATURAS.</b>	VI
<b>PRÓLOGO</b>	X
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>OBJETIVOS</b>	3
<b>1. MARCO TEÓRICO</b>	4
1.0 Propiedades fisicoquímicas del Clorhidrato de Propafenona	5
1.1 Nombre químico	5
1.2 Fórmula condensada	5
1.3 Sinónimos	5
1.4 Estructura química	5
1.5 Peso molecular	5
1.6 Descripción	6
1.7 Solubilidad	6
1.8 Naturaleza química y pKa	6
1.9 Productos de degradación	6
1.10 Condiciones de almacenamiento	6
1.2.0 Aspectos farmacológicos	6
1.2.1 Indicaciones terapéuticas	6

1.2.2	Farmacocinética y Farmacodinamia	7
1.3.0	Biodisponibilidad	9
1.3.1	Concepto de biodisponibilidad	9
1.3.2	Objetivos de los estudios de biodisponibilidad	10
1.3.3	Determinación de la biodisponibilidad	11
1.3.4	Sistema de Clasificación Biofarmacéutico	19
1.3.5	Prueba de disolución	20
1.3.5.1	Concepto de disolución	22
1.3.5.2	Velocidad de disolución	22
1.3.5.3	Desarrollo del método para perfiles de disolución	24
1.3.5.3.1	Selección del aparato de disolución	25
1.3.5.3.2	Selección del volumen y medio de disolución	33
1.3.5.3.3	Selección de la velocidad de agitación	35
1.3.5.3.4	Temperatura del medio de disolución	36
1.3.5.3.5	Duración de la prueba de disolución	39
1.3.5.3.6	Comparación de los perfiles de disolución	40
1.3.5.3.7	Correlación in vivo/ in vitro (IVIVC)	44
1.3.6	Validación de métodos analíticos	46



1.3.6.1	Concepto de validación	48
1.3.6.2	Tipos de validación	48
1.3.6.3	Tipos de métodos analíticos a ser validados	51
1.3.6.4	Parámetros de desempeño	52
1.3.6.4.1	Linealidad	53
1.3.6.4.1.1	Linealidad del sistema	53
1.3.6.4.1.2	Linealidad del método	53
1.3.6.4.2	Precisión	54
1.3.6.4.3	Exactitud	54
1.3.6.4.4	Límite de detección	55
1.3.6.4.5	Límite de cuantificación	55
1.3.6.4.6	Repetibilidad	56
1.3.6.4.7	Reproducibilidad	56
1.3.6.4.8	Sensitividad	57
1.3.6.4.9	Estabilidad de la muestra procesada	57
1.3.6.4.10	Robustez	58
1.3.6.4.11	Tolerancia	58
1.3.6.5	Criterios de aceptación	58
<b>2.</b>	<b>DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO</b>	<b>61</b>
2.0	Diagrama de flujo	63

2.1	Equipo y material	64
2.1.1	Equipo	64
2.1.2	Material	64
2.2	Selección de las condiciones para la prueba de disolución	65
2.2.1	Aparato de disolución y velocidad de agitación	65
2.2.2	Medio de disolución	67
2.2.3	Duración de la prueba de disolución	69
2.3	Desarrollo del método analítico	71
2.3.1	Condiciones espectrofotométricas	71
2.3.2	Interferencia	72
2.3.3	Concentraciones para la cuantificación	73
2.3.4	Ensayo analítico	74
2.3.5	Lectura y estimación	74
<b>3.0</b>	<b>VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO</b>	<b>75</b>
3.0	Validación del método analítico	76
3.0.1	Validación del sistema	76
3.0.1.1	Linealidad	76
3.0.1.2	Precisión	80
3.0.2	Validación del método	81
3.0.2.1	Linealidad	81

3.0.2.2	Precisión y exactitud	85
3.0.2.3	Repetibilidad y reproducibilidad	89
3.0.2.4	Límite de detección y límite de cuantificación	95
3.0.2.5	Sensitividad	98
3.0.2.6	Estabilidad de la muestra procesada	100
<b>4.0</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>105</b>
<b>5.0</b>	<b>ANEXO</b>	<b>108</b>
<b>6.0</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>118</b>

# ABREVIATURAS

ABC	Área Bajo la Curva
Add	Adicionada
APhA	Asociación de Farmacéuticos Americanos
b	Ordenada al origen
°C	Grados centígrados
CM	Cuadrado medio
C <sub>máx</sub>	Concentración máxima
CNQFB	Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos
Conc	Concentración
CR	Liberación controlada
C.V.	Coefficiente de variación
Desv Est	Desviación estándar muestral
DMS	Diferencia Mínima Significativa
e.g.	Ejemplo
ER	Liberación extendida
Est	Estimada

FDA	Food and Drug Administration
Fig.	Figura
FIP	Federación Internacional Farmacéutica
g	Gramos
h	Horas
Ha	Hipótesis alterna
HCl	Ácido clorhídrico
Ho	Hipótesis nula
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
IC(B <sub>0</sub> )	Intervalo de confianza de la ordenada al origen
IC (B <sub>1</sub> )	Intervalo de confianza de la pendiente
IC(μ )	Intervalo de confianza de la media
IR	Liberación inmediata
IVIVC	Correlación in vivo - in vitro
Ka	Constante de absorción
L	Litros
λ	Longitud de onda
LC	Límite de cuantificación

LD	Límite de detección
LIC	Límite inferior de confianza
LSC	Límite superior de confianza
m	Pendiente
µg	Microgramos
mL	Mililitros
N	Normal
NaOH	Hidróxido de sodio
nm	Nanómetros
NOM	Norma Oficial Mexicana
PPF	Propafenona
r	Coefficiente de correlación
r <sup>2</sup>	Coefficiente de determinación
rpm	Revoluciones por minuto
RR	Liberación retardada
SC	Suma de cuadrados
SCB	Sistema de Clasificación Biofarmacéutico
T <sub>máx</sub>	Tiempo máximo

USP	Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica
UV	Ultravioleta
WPW	Wolff-Parkinson-White

# PRÓLOGO

La fuerte competitividad industrial de la que somos testigos actualmente ha revolucionado el concepto de calidad, aumentando la importancia que ésta ya había tenido tradicionalmente. Hoy en día, la calidad se utiliza como sello de garantía de cualquier producto industrial. La vocación de la industria farmacéutica desde siempre ha sido producir medicamentos de calidad y con total garantía de su seguridad. Al elaborar sus productos destinados a curar la enfermedad, salvar vidas o mejorar la calidad de vida, no puede haber el mínimo margen de error. Para alcanzar un alto nivel de calidad en los medicamentos se requiere garantizar que cada una de las etapas de producción se realiza de acuerdo a las Buenas Prácticas de Fabricación y Buenas Prácticas de Laboratorio además de cumplir con parámetros de calidad previamente definidos.

Una de las herramientas con las que se cuenta para asegurar la calidad de los productos es la validación de procedimientos, por lo cual, la adopción de un nuevo método analítico debe estar soportado por suficientes datos de laboratorio y una validación bien documentada, que cumpla con los requisitos establecidos. Validar implica demostrar experimental y formalmente que un proceso de medición química o una parte del proceso (muestreo, tratamiento de datos) funciona como se espera. La validación consiste en contar con



evidencias documentadas que proveen un alto grado de aseguramiento de que un determinado método producirá consistentemente datos altamente confiables.

Esta obra se escribió con el objeto de proporcionar una herramienta que asegure la calidad en la evaluación de lote a lote en el proceso de fabricación de tabletas de clorhidrato de propafenona. Para ello se desarrolló y validó un método analítico para cuantificar dicho analito durante la prueba de disolución de tabletas.

La importancia de este trabajo radica en que existe poca bibliografía sobre métodos analíticos para cuantificar clorhidrato de propafenona en tabletas, de tal manera que fue necesario desarrollar primeramente dicho método para después demostrar que es confiable y reproducible.

En este trabajo se presentan las generalidades del principio activo, posteriormente se hace referencia a temas como biodisponibilidad, prueba de disolución y validación de métodos analíticos. Asimismo se provee toda la información referente a la metodología experimental, haciendo uso de gráficos y tablas que facilitan su comprensión. Finalmente se presenta un cuadro comparativo de los resultados obtenidos con los resultados esperados de acuerdo a la NOM-177-SSA1-1998 y en la Guía de Validación del Colegio Nacional de QFB's, así como las referencias bibliográficas utilizadas.

El presente documento fue creado como un instrumento de consulta sencillo y estructurado de tal manera que facilite su comprensión a los estudiantes de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo. Sin embargo, su lectura puede ser también útil a todos aquellos estudiantes y profesionales interesados en el Desarrollo Analítico.

Se agradece de manera especial al Jefe de la Sección de Tecnología Farmacéutica DAR Juan José Díaz Ezquivel por permitirnos hacer uso de las instalaciones del LEM Farmacia para realizar este trabajo. Asimismo se agradece a cada una de las personas que con su trabajo cotidiano, su interés y constante apoyo, contribuyeron a realizar esta obra.



## I N T R O D U C C I Ó N

Las crecientes exigencias de calidad de los productos farmacéuticos y la necesidad de optimización del proceso productivo hacen que sea necesario disponer de métodos de análisis rápidos y confiables. Algunos de los métodos de análisis vigentes conllevan una complejidad de tratamiento de muestra y un elevado tiempo de análisis, que afectan la productividad.

La prueba de disolución es un requerimiento clave para el desarrollo, registro y control de calidad de formas sólidas de dosis orales en la industria farmacéutica. Nos permite hacer la selección de componentes de una formulación así como determinar las condiciones de operación del proceso de fabricación en tabletas. A través de los perfiles de disolución se puede evaluar el desempeño de procesos de fabricación y en algunos casos establecer correlación con la biodisponibilidad de un producto.

Debido a la importancia del estudio de los perfiles de disolución es imprescindible la utilización de un método analítico confiable que permita cuantificar el producto mayoritario en forma de materia prima o como ingrediente activo de una formulación, durante el desarrollo y optimización del proceso de fabricación de formas farmacéuticas.

Para asegurar confiabilidad, los métodos analíticos se someten a un proceso de validación. Mediante un proceso de



validación, se comprueba si el método es lo suficientemente confiable y si los resultados previstos se obtienen dentro de las condiciones prefijadas. La validación de los métodos analíticos se fundamenta en la determinación de diversos parámetros que se aplican de acuerdo con la categoría a la que pertenezcan.

Para el comportamiento de la buenas prácticas de laboratorio la validación es un requisito imprescindible que está establecido por agencias regulatorias y por comisiones de Farmacopeas para el registro de nuevos medicamentos.

El propósito principal de este trabajo es proporcionar un método analítico confiable para ser utilizado durante la prueba de disolución, que aún cuando esta in vitro, no es lo suficientemente predictiva de la biodisponibilidad como para reemplazar la prueba biológica, sí es una herramienta para asegurar que una formulación provee seguridad y efectividad clínica.



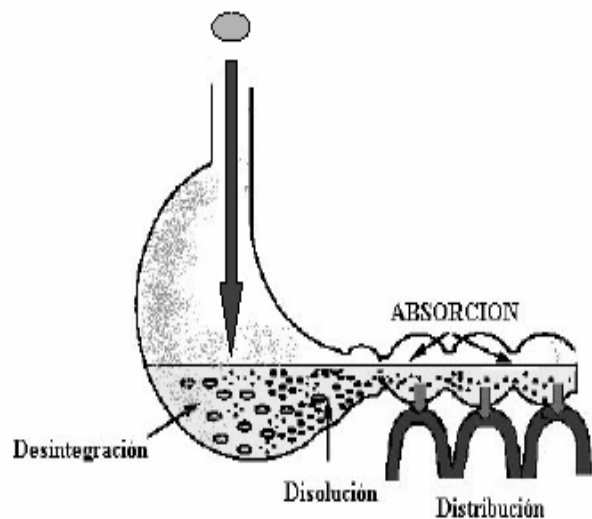
### **Objetivo General**

- ✿ Desarrollar y validar un método analítico por espectrofotometría ultravioleta para evaluar perfiles de disolución de clorhidrato de propafenona en tabletas.

### **Objetivos particulares**

- ✿ Seleccionar las condiciones espectrofotométricas óptimas que permitan la cuantificación de clorhidrato de propafenona en tabletas.
- ✿ Establecer un ensayo analítico confiable para cuantificar clorhidrato de propafenona durante la prueba de disolución de tabletas.
- ✿ Validar el método analítico desarrollado, cumpliendo con los criterios de aceptación establecidos en la Guía de Validación del Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos y en la NOM 177, para demostrar que es confiable y reproducible.

# MARCO TEÓRICO





## 1.0 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DEL CLORHIDRATO DE PROPAFENONA

The Merck Index, 2001; [www.micromedex.com/fraMain.asp](http://www.micromedex.com/fraMain.asp)

### 1.1 NOMBRE QUÍMICO

Clorhidrato, 2'-[2-hidroxi-3-(propilamino) propoxi]-3-fenil-propafenona.

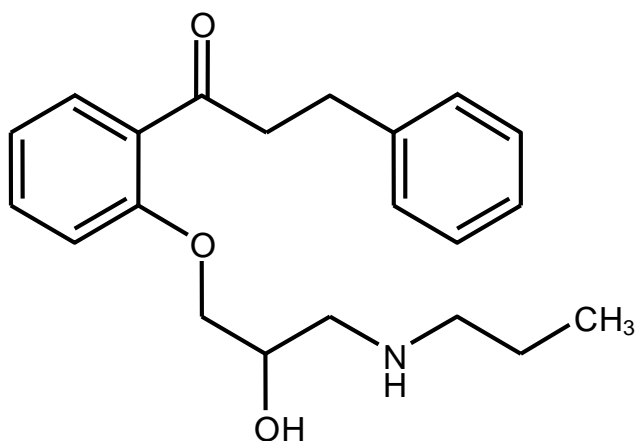
### 1.2 FÓRMULA CONDENSADA



### 1.3 SINÓNIMOS

Clorhidrato de Fenopraína, Pulonon, Rythmol

### 1.4 ESTRUCTURA QUÍMICA



• HCl

### 1.5 PESO MOLECULAR

377.91g/mol



## 1.6 DESCRIPCIÓN

Cristales finos, blancos

## 1.7 SOLUBILIDAD

Soluble en agua caliente y en alcohol metílico; levemente soluble en alcohol y en cloroformo; muy levemente soluble en acetona; insoluble en éter y en tolueno.

## 1.8 NATURALEZA QUÍMICA Y pKa

Base, 8.8

## 1.9 PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN

Por hidroxilación, 5-Hidroxiopropafenona y N-depropilpropafenona.

## 1.10 CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar en envases herméticos en una temperatura entre 15 y 30 grados. Proteger de luz.

### 1.2.0 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS PLM, 2004, p. 2191-2192.

#### 1.2.1 INDICACIONES TERAPÉUTICAS

La propafenona es un fármaco antiarrítmico de la subclase Ic aprobada para las taquiarritmias supraventriculares sintomáticas que requieran tratamiento, como la taquicardia de la unión AV,





taquicardia supraventricular en pacientes con Síndrome de Wolff-Parkinson-White (WPW) o fibrilación auricular paroxística.

Taquiarritmias supraventriculares sintomáticas severas, si el médico considera que estas pueden poner en peligro la vida.

Tratamiento y prevención de extrasístoles ventriculares y supraventriculares incluyendo el síndrome de WPW.

### **1.2.2 FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA**

La concentración plasmática máxima se alcanza entre dos y tres horas después de la administración de propafenona IR. Se sabe que la propafenona sufre biotransformación presistémica extensa y saturable (efecto de primer paso hepático vía el CYP2D6), que resulta en una biodisponibilidad absoluta dependiente de la dosis y de la forma de dosificación.

Hay dos patrones, determinados genéticamente, de la biotransformación de propafenona. En más de 90% de los pacientes, el medicamento es biotransformado rápida y extensamente con una vida de eliminación de dos a diez horas. Estos pacientes biotransforman propafenona en dos productos de degradación activos: 5-hidroxi-propafenona que es formado por el CYP2D6 y N-depropilpropafenona (norpropafenona) que es formado por CYP3A4 y CYP1A2. En menos del 10% de los pacientes, la biotransformación de propafenona es más lenta, porque el producto 5-hidroxi no se forma o se forma mínimamente.

La vida media de eliminación calculada para propafenona IR fluctúa entre 2.8 a 11 horas para los biotransformadores extensos y es de alrededor de 17 horas en los biotransformadores lentos.



Debido a que el estado estable se alcanza después de tres a cuatro días de dosificación en todos los pacientes, el régimen de dosificación recomendado de propafenona IR es el mismo para todos los pacientes.

Con propafenona hay un grado considerable de variabilidad individual de la farmacocinética que se debe en gran medida al efecto del primer paso hepático y a la farmacocinética no lineal en los metabolizadores extensos. La gran variabilidad en los niveles sanguíneos requiere que la dosis sea evaluada cuidadosamente en los pacientes, poniendo mucha atención a la evidencia de toxicidad clínica y electrocardiográfica.



### **1.3.0 BIODISPONIBILIDAD** Vila, 2001, p. 30-32; Estévez, 2000, p. 133-134.

Cuando se dispone de una sustancia de eficacia farmacológica totalmente comprobada debe formularse y elaborarse tecnológicamente, de modo que su aprovechamiento por el organismo resulte óptimo. Para que un determinado principio activo ejerza una acción terapéutica óptima, la formulación que lo contiene debe liberarlo de forma que alcance una concentración eficaz en su lugar de acción durante un determinado período de tiempo. El proceso de liberación del fármaco de la forma farmacéutica debe ser lo más constante posible sin que se presenten variaciones significativas entre los distintos lotes de fabricación, con la finalidad de que pueda garantizarse una respuesta terapéutica reproducible; en otras palabras, debe conocerse la biodisponibilidad de un principio activo contenido en una forma farmacéutica y ser ésta reproducible para garantizar, a su vez, la reproducibilidad de las respuestas terapéuticas. Este aspecto es especialmente importante en el control de calidad de los lotes de fabricación y muy especialmente en el caso de la sustitución terapéutica de medicamentos. Debido a ello, en la actualidad se exige que, como paso previo a la comercialización de un medicamento, se determine su biodisponibilidad.

#### **1.3.1 CONCEPTO DE BIODISPONIBILIDAD**

La APhA (Asociación de Farmacéuticos Americanos) define la biodisponibilidad como:



Velocidad y cantidad a la cual un principio activo o componente activo, absorbido a partir de la forma de dosificación que lo contiene alcanza la circulación sistémica.

### **1.3.2 OBJETIVOS DE LOS ESTUDIOS DE BIODISPONIBILIDAD**

Dómenech, 2001, p.19; Estévez, 2000, p.135

Los estudios de biodisponibilidad pueden estar encaminados hacia distintos objetivos, como son:

- A. Determinación de la biodisponibilidad de un principio activo como parámetro biofarmacéutico equivalente a una propiedad intrínseca del mismo.
- B. Determinación de la biodisponibilidad de un principio activo en la forma farmacéutica diseñada, como control biológico de calidad de la forma farmacéutica.
- C. Determinación de la biodisponibilidad de un principio activo en términos comparativos, con la finalidad de comprobar si se presentan modificaciones de este parámetro bajo las siguientes circunstancias:
  - ✱ Cuando se ha modificado el proceso de fabricación de la forma farmacéutica que contiene el fármaco (al existir factores tecnológicos que pueden influir en la biodisponibilidad).
  - ✱ Cuando se ha modificado, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, sustancialmente la formulación de una determinada forma farmacéutica; el diseño de la forma de



dosificación puede modificar la biodisponibilidad, en función de los distintos excipientes incluidos en la formulación.

- ✳ Cuando se requiere justificar las especificaciones del ensayo de disolución. Resulta importante conocer las relaciones existentes entre la liberación de un determinado principio activo a partir de la forma farmacéutica que lo contiene y su biodisponibilidad. El establecimiento de las correlaciones in vivo/in vitro es un método racional para fijar las especificaciones del ensayo de disolución justificadas en los estudios de biodisponibilidad.

D. En los ensayos de bioequivalencia encaminados a comprobar la similitud de la biodisponibilidad de las alternativas farmacéuticas y equivalentes farmacéuticos, que son la base científica para poder realizar la sustitución terapéutica con las máximas garantías de seguridad y eficacia.

De todos estos objetivos se desprende el carácter eminentemente aplicado a los estudios de biodisponibilidad y el papel que juegan en el desarrollo de nuevos fármacos y en el diseño de nuevas formas farmacéuticas.

### **1.3.3 DETERMINACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD** Dómenech, 2001, p.19; Estévez, 2000, p.135; Vila, 2001, p.30-31.

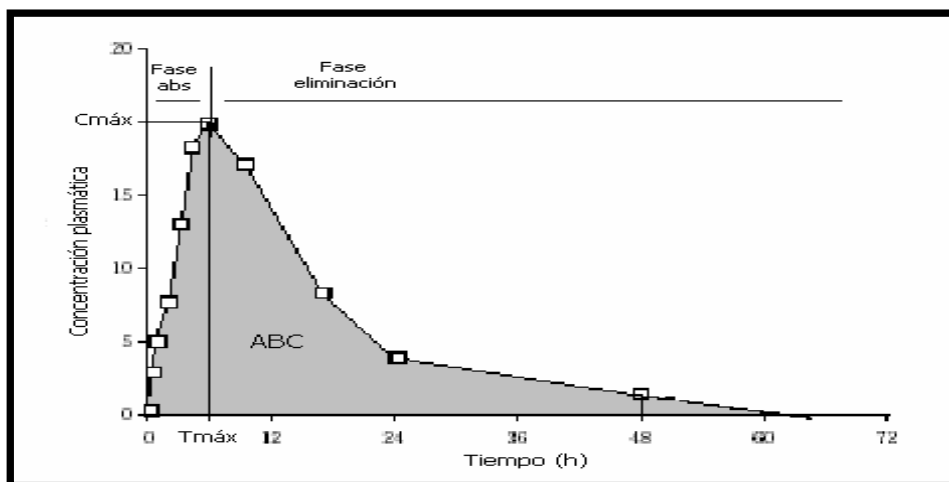
La cantidad de fármaco administrado que accede a la circulación sistémica puede determinarse a partir de las curvas de



niveles plasmáticos o a partir de datos de excreción urinaria, al ser la sangre y la orina dos líquidos biológicos totalmente muestreables.

Las concentraciones plasmáticas que se obtienen con un principio activo después de su administración se pueden representar de forma gráfica según la relación entre concentraciones plasmáticas a distintos tiempos.

En una curva de concentraciones plasmáticas con respecto al tiempo, se aprecian dos fases. En la primera fase predomina la absorción y existe un aumento de concentraciones en el plasma hasta que se alcanza el valor máximo de concentraciones ( $C_{m\acute{a}x}$ ). El tiempo al que se alcanza ese valor máximo es conocido por las siglas  $T_{m\acute{a}x}$ . Una vez que se alcanza el valor máximo comienza la segunda fase en la que disminuyen los valores de concentraciones plasmáticas. Se puede calcular la biodisponibilidad según el valor de Área Bajo la Curva (ABC) que se obtiene al representar las concentraciones plasmáticas frente al tiempo (Fig. 1).



**Fig. 1. Curva de concentración respecto al tiempo para un fármaco administrado por vía oral.**



Cuando se comparan las características biofarmacéutica y farmacocinéticas de distintos principios activos y distintas formulaciones puede ser interesante contrastar la velocidad de absorción, lo que se puede hacer con facilidad mediante la comparación de los valores de  $T_{m\acute{a}x}$ . También se pueden cotejar las cantidades totales absorbidas mediante los valores de ABC; en ocasiones el  $C_{m\acute{a}x}$  puede suministrar información preliminar.

La biodisponibilidad puede ser determinada de dos formas: una en la que se mide la eficacia de la vía de administración en caso de ser posible administrar un fármaco por vía intravenosa y otra en la que se mide la eficacia de la forma farmacéutica sin necesidad de involucrar una administración intravenosa.

■ **Biodisponibilidad absoluta.** La biodisponibilidad absoluta de un medicamento es una medida de la eficacia de la vía de administración. La vía intravenosa es la referencia absoluta dado que cuando se inyecta un fármaco por ella ingresa al medio interno 100% de la dosis administrada. Para evaluar la biodisponibilidad absoluta se administra el mismo principio activo primero en una forma farmacéutica para uso intravenoso y, luego, en otra forma farmacéutica preparada para administrar por la vía que queremos estudiar (oral, intramuscular, rectal, etc.). Se hace un muestreo seriado de sangre venosa y se grafican las concentraciones del fármaco en ordenadas y el tiempo en las abscisas, el área que queda bajo la curva determinada por estos puntos, es proporcional a la cantidad de



fármaco que hay en el organismo en el intervalo considerado. En el caso que la dosis administrada por vía intravenosa sea la misma que la administrada por la vía de prueba, la biodisponibilidad se determina mediante la relación de las áreas bajo la curva de niveles plasmáticos de acuerdo con la siguiente expresión:

$$F = \text{ABC}_{\text{ev}} / \text{ABC}_{\text{iv}}$$

donde:

- **F** = Fracción de la dosis administrada que efectivamente alcanzó el medio interno
- **ABC<sub>ev</sub>** = Área Bajo la Curva de la administración por la vía de prueba
- **ABC<sub>iv</sub>** = Área Bajo la Curva de la administración por vía intravenosa

■ **Biodisponibilidad relativa.** La biodisponibilidad relativa, sin embargo, es una medida de la eficacia de la absorción de un mismo principio activo desde dos formas farmacéuticas similares (por ejemplo comprimidos de liberación retardada versus una cápsula blanda de liberación inmediata) administradas por la misma vía. Por lo tanto en este caso se evalúa la eficacia de la forma farmacéutica, dado que la variable, vía de administración, permanece constante. Puesto que no siempre es factible la





utilización de la vía intravenosa, tampoco en todos los casos será posible la determinación de la biodisponibilidad absoluta. En los casos en que no es posible utilizar el fármaco por vía intravenosa se suele utilizar como estándar de referencia otra administración extravasal del fármaco en lugar de una intravenosa, estándar que debe ser lo más biodisponible posible; así, si el principio activo es soluble se utilizará una solución acuosa del mismo, mientras que si es insoluble se hará uso de una suspensión. En los estudios de bioequivalencia se utilizará como forma de referencia una forma de dosificación de la que se conoce la constancia de su biodisponibilidad así como su eficacia clínica. En estas circunstancias en las que no puede estimarse en términos absolutos la fracción de la dosis que tras la administración de la formulación problema accede inalterada a la circulación sistémica, sino sólo en términos relativos respecto a la formulación de referencia, lo que se determina es la biodisponibilidad relativa. En el caso en que la dosis administrada sea la misma para las dos formulaciones (en los estudios de biodisponibilidad relativa este caso se da con mucha frecuencia) dicho parámetro se determinará directamente a partir de la relación de los valores de las áreas bajo la curva de niveles plasmáticos, mediante la expresión:

$$F_{rel} = ABC_{pb} / ABC_{ref}$$

donde:



- **F** = Fracción relativa de la dosis administrada que alcanzó el medio interno
- **ABC<sub>pb</sub>** = Área Bajo la Curva de la administración de prueba
- **ABC<sub>ref</sub>** = Área Bajo la Curva de la administración de referencia

Un caso especial de biodisponibilidad relativa es la “bioequivalencia”, en la cual se comparan equivalentes farmacéuticos administrados por la misma vía. En este caso se evalúa el desempeño farmacocinético de especialidades de un mismo fármaco, en la misma forma farmacéutica pero de diferente procedencia.

El estudio de bioequivalencia es la metodología aceptada por todas las agencias normativas de los países desarrollados para llevar a cabo el controlador de la sustitución de un medicamento original por uno genérico.

Los estudios de bioequivalencia pretenden demostrar que dos formulaciones del mismo principio activo y misma forma farmacéutica, son terapéuticamente equivalentes y, por tanto, intercambiables. Constituyen la base para la autorización de la comercialización de los medicamentos genéricos intercambiables, que son formulaciones del mismo principio activo con un precio bastante inferior a los fármacos de marca, siendo ésta la principal justificación de su existencia. Abad, p. 69-71.

■ **Bioequivalencia.** La evaluación de la bioequivalencia se basa en la siguiente suposición: dos formulaciones se consideran



bioequivalentes cuando tras su administración al organismo la cantidad de fármaco que accede al lugar de acción (biofase) y la velocidad a la que accede es esencialmente la misma; en este caso se asume que ambos productos serán terapéuticamente equivalentes.

Los estudios de bioequivalencia comparan la biodisponibilidad de una formulación problema con la biodisponibilidad de una formulación de referencia, cuya actividad terapéutica viene avalada por ensayos clínicos de la misma. En definitiva se trata de determinar la biodisponibilidad de la formulación problema frente a la de referencia y demostrar que los valores de biodisponibilidad relativa de la primera se hallan dentro de unos límites predeterminados (estos límites son fijados por las autoridades sanitarias).

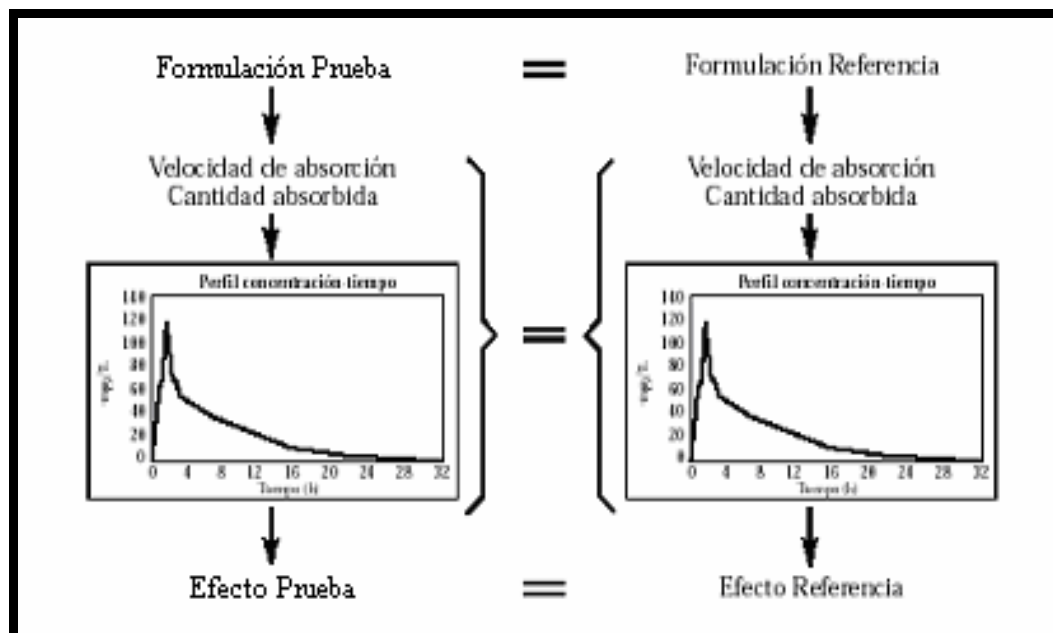


Fig. 2. Esquema representativo de la Bioequivalencia. Frías, p. 83.



Los parámetros farmacocinéticos relacionados con la biodisponibilidad que se someten a comparación son:  $ABC$ ,  $C_{máx}$ ,  $t_{máx}$ ,  $C_{máx}/ABC$ ,  $K_a$  (en el caso de que se conozcan).

En la práctica la comprobación de la bioequivalencia es el ensayo más apropiado para garantizar la equivalencia terapéutica entre dos equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas. Se asume que ambos medicamentos poseen excipientes reconocidos como seguros y que poseen las mismas garantías de uso. En determinados casos en los que se evidencian diferencias en la velocidad de absorción pueden considerarse terapéuticamente equivalentes en el supuesto de que la diferencia en la velocidad de absorción no sea relevante desde un punto de vista terapéutico.

Es de especial importancia tomar en cuenta el grado de desarrollo de cada país, ya que, la tecnología y los recursos pueden llegar a ser limitados para llevar a cabo estudios de bioequivalencia "in vivo". Por otra parte los estudios de bioequivalencia tienen un costo elevado, son de mayor complejidad que los estudios "in vitro" y conllevan ciertos riesgos potenciales para los voluntarios sanos que participan en ellos, por lo que también se plantean interrogantes de tipo ético.

En estas circunstancias adquiere especial relevancia el Sistema de Clasificación Biofarmacéutico (SCB), desarrollado por el profesor Gordon Amidon, junto con otros investigadores, y que está siendo paulatinamente adoptado como parte fundamental en las nuevas



políticas para la regulación de la bioequivalencia de los medicamentos.

#### **1.3.4 SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICO**

El SCB es un marco científico para clasificar los fármacos 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 alcance de la absorción del fármaco a partir de formas farmacéuticas orales sólidas de liberación inmediata: disolución, solubilidad y permeabilidad intestinal. Según el SCB, los fármacos se clasifican de la siguiente manera:

**Clase I: Alta solubilidad – Alta permeabilidad**

**Clase II: Baja solubilidad – Alta permeabilidad**

**Clase III: Alta solubilidad – Baja permeabilidad**

**Clase IV: Baja solubilidad – Baja permeabilidad**

Cuando se cumplen ciertos criterios, se puede usar el SCB como herramienta de desarrollo del fármaco para ayudar a los laboratorios a justificar sus solicitudes de bioexenciones. Guidance FDA, 2000, II.

El término bioexención (en inglés biowaiver) se utiliza para indicar la exención de pruebas de biodisponibilidad y de bioequivalencia por métodos farmacocinéticos. La bioexención consiste en la comparación estadísticamente validada, de los perfiles



de disolución de un producto de prueba con respecto a una referencia. La FDA admite que bajo ciertas circunstancias la biodisponibilidad y la bioequivalencia pueden documentarse usando métodos *in vitro*. Señala que para productos de administración oral de fármacos de disolución rápida, altamente solubles y altamente permeables (Clase I del SCB), la documentación de bioequivalencia es apropiada empleando datos de disolución *in vitro*. Actualmente la FDA está evaluando la posibilidad de extender el concepto de bioexención a los principios activos clasificados en la Clase III.

### **1.3.5 PRUEBA DE DISOLUCIÓN** Remington, 2003, p. 764-775.

A mediados de siglo el énfasis respecto al concepto de disolución comenzó a desplazarse hacia el examen de los efectos que el comportamiento de la disolución de fármacos tiene sobre la actividad de los preparados farmacéuticos. Uno de los estudios preliminares con este propósito fue llevado a cabo por J. Edwards en 1951 en comprimidos de aspirina. Sobre la base de sus hallazgos informó que “debido a su escasa solubilidad, la acción analgésica de los comprimidos de aspirina estaría controlada por su velocidad de disolución en el estómago y en el intestino”. Sin embargo, Edwards no llevó a cabo ningún estudio *in vivo* para evaluar su postulado.

Aproximadamente 8 años más tarde, Shenoy y colaboradores demostraron la validez de la sugerencia de Edwards de la correlación *in vivo*/ *in vitro* por medio de la demostración de una relación directa entre la biodisponibilidad de la anfetamina de comprimidos de liberación sostenida y su velocidad de disolución *in vitro*. Otros



estudios, en especial los de Nelson, Levy y otros, confirmaron más allá de toda duda el efecto significativo de la conducta de disolución de los fármacos sobre sus actividades farmacológicas. Debido a la importancia de estos hallazgos, las pruebas de disolución comenzaron a surgir como un tema dominante tanto en el campo académico farmacéutico como en la industria farmacéutica.

A fines de la década de 1960 las pruebas de disolución se convirtieron en un requerimiento obligatorio para diversos preparados. Sin embargo el papel de la disolución en la absorción de los fármacos está lejos de ser comprendido perfectamente. A pesar del éxito informado de diversos estudios de correlación in vitro/in vivo, la disolución no es un predictor de la eficacia terapéutica. Más bien es una herramienta cualitativa que puede proporcionar información valiosa:

- ✿ Puede ser un indicador del desempeño "in vivo".
- ✿ Sirve como una prueba de control de calidad que provee evidencia sobre la consistencia física del producto y el proceso de fabricación.
- ✿ Sirve como una herramienta de aseguramiento de calidad en la evaluación de lote a lote.
- ✿ Es útil en las primeras etapas del desarrollo del producto y de su formulación. Ayuda en la selección de la formulación más deseable para desarrollo.
- ✿ Utilizada ampliamente para probar la estabilidad del producto.
- ✿ Provee los datos para facilitar la aprobación inicial y los cambios referentes al escalamiento y post-aprobación del producto.



- ✿ Permite a las entidades regulatorias tomar la decisión de aprobar los cambios menores en la formulación y procesos de fabricación.
- ✿ Es un requisito regulatorio en las pruebas de evaluación de formas farmacéuticas sólidas.

De aquí que la prueba de disolución sea un requerimiento clave para el desarrollo, registro y control de calidad de formas sólidas de dosis orales en la industria farmacéutica.

#### **1.3.5.1 CONCEPTO DE DISOLUCIÓN**

Disolución es el proceso mediante el cual una sustancia sólida entra en un solvente para dar como resultado una solución, o simplemente es el proceso durante el cual una sustancia sólida se disuelve.

#### **1.3.5.2 VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN**

La velocidad de disolución se define como la cantidad de fármaco que se disuelve por unidad de tiempo bajo condiciones estandarizadas de la interfase líquida/sólida, la temperatura y la composición del solvente.

Para determinar la velocidad de disolución de fármacos de preparados sólidos en condiciones estandarizadas, deben considerarse los diversos factores por los que se puede ver afectada:





- ✳ Características físicas de la forma farmacéutica sólida
- ✳ Capacidad de humectación de la forma farmacéutica
- ✳ Capacidad de penetración en el medio de disolución
- ✳ Proceso de hinchazón
- ✳ Desintegración
- ✳ Disgregación
- ✳ Propiedades físico-químicas del fármaco

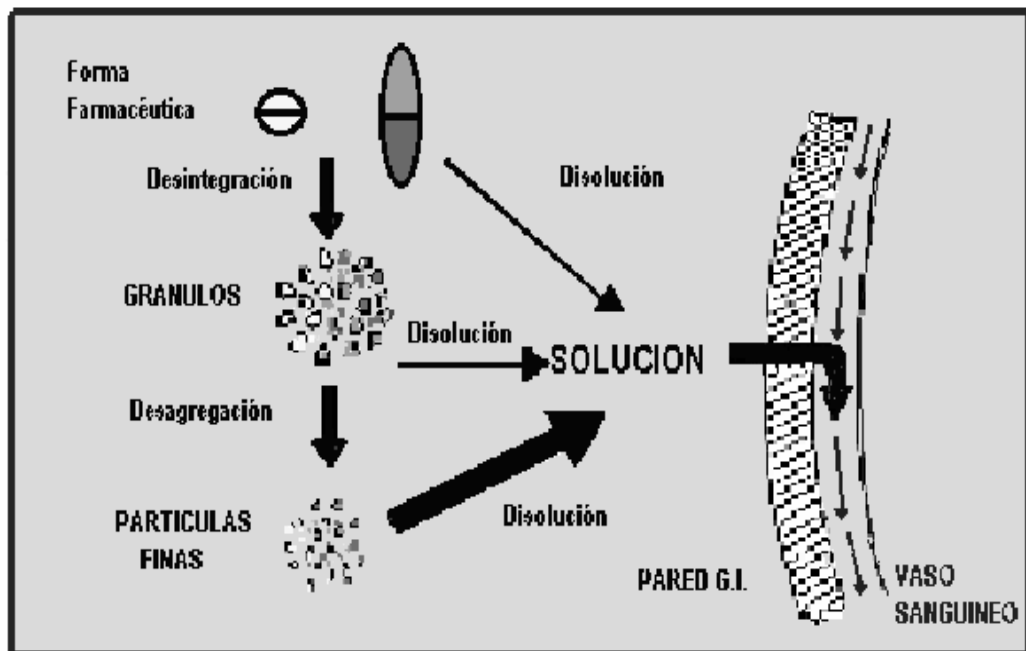


Fig. 3. Diagrama esquemático que ilustra los procesos involucrados en la disolución de preparados sólidos. Bermejo, 2003-

2004, p. 2.

Carstensen explica que la humectación de la superficie de los preparados sólidos controla el acceso de líquido hacia la superficie del sólido y muchas veces es el factor limitante en el proceso de disolución. La velocidad de la humectación depende directamente de



la tensión superficial en la interfase (tensión interfásica) y el ángulo de contacto,  $\theta$ , entre la superficie del sólido y el líquido. En general un ángulo de contacto de más de 90 grados indica una pobre capacidad de humectación. La incorporación de una sustancia tensoactiva, en el preparado o en el medio de disolución, disminuye el ángulo de contacto e incrementa la disolución. Además, la presencia de aire en el medio de disolución hace que las burbujas de aire sean atrapadas en los poros de los comprimidos y actúen como una barrera en la interfase.

Una vez que el preparado sólido se ha desintegrado en gránulos o agregados, las características de penetración desempeñan un papel primario en el proceso de desagregación. Los lubricantes hidrofóbicos, disminuyen la velocidad de disolución y por lo tanto el proceso de desagregación. El gran tamaño de los poros facilita la penetración pero si es demasiado grande puede inhibir la penetración por disminución de la tensión interna causada por la hinchazón del desintegrante.

Una vez que se produce la desagregación y dislocación, las partículas del fármaco quedan expuestas al medio de disolución y la disolución principal tiene lugar.

#### **1.3.5.3 DESARROLLO DEL MÉTODO PARA PERFILES DE DISOLUCIÓN**

Establecer especificaciones de disolución permite la liberación de nuevos lotes dentro del mercado de venta.



Las especificaciones de disolución *in vitro* se establecen para asegurar la constancia de lote a lote y para indicar posibles problemas con la biodisponibilidad *in vivo*.

El desarrollo del método debe hacerse utilizando aparatos de disolución calibrados y siguiendo las recomendaciones descritas en las diferentes guías de la FDA y en los capítulos de la USP para disolución, Liberación de Fármacos, Disolución Intrínseca y Evaluación de Formas Farmacéuticas, *in vitro* e *in vivo* respectivamente.

#### **1.3.5.3.1 SELECCIÓN DEL APARATO DE DISOLUCIÓN**

Actualmente la USP hace referencia a 7 aparatos oficialmente reconocidos, para llevar a cabo la prueba de disolución. Sin embargo, la elección de este depende de la forma farmacéutica en cuestión.

Los aparatos 1 al 4 se diseñan específicamente para pruebas de disolución en tabletas. Los aparatos de disolución más empleados son el Aparato 1 (método de canastilla) y Aparato 2 (método de paleta).

Los otros aparatos de la USP o métodos alternativos deben usarse si es necesario basándose en lo que más conviene para un producto o forma farmacéutica en particular.

A continuación se presentan los siete aparatos a los que hace referencia la USP para la prueba de disolución.



**Aparato 1. Canastilla.** Utilizado para productos de liberación oral inmediata (IR), extendida (ER), retardada (RR) (e.g., cápsulas de gelatina dura y blanda, tabletas sin cubierta, tabletas con cubierta simple y cubierta entérica).

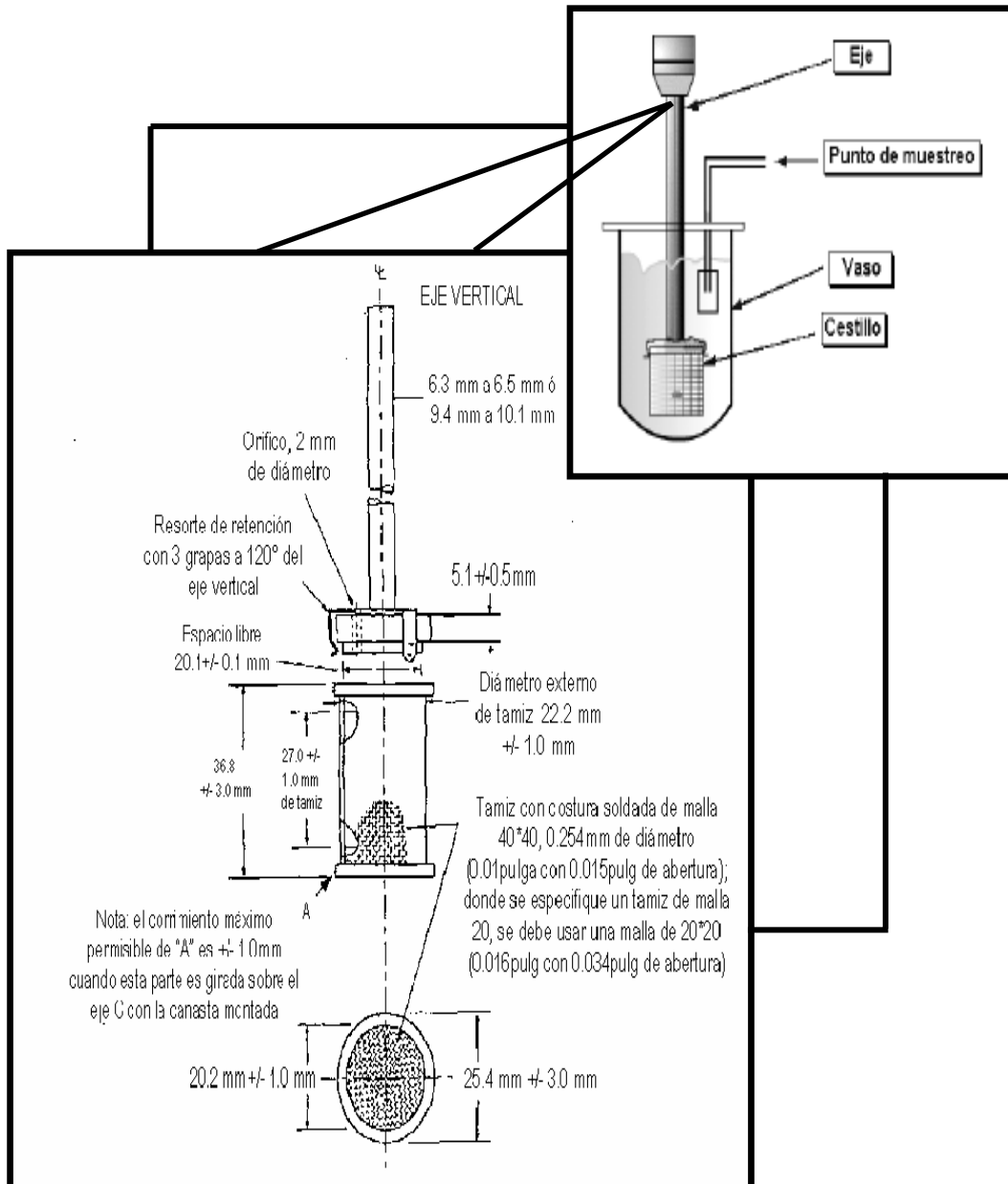


Fig. 4. Aparato 1 USP. Canastilla. \*



■ **Aparato 2. Paletas.** Este método es utilizado para productos IR, CR, ER, RR. Los métodos de canastilla y paleta son simples, robustos, estándares y se usan mundialmente. Estos métodos son suficientemente flexibles para usarse en las pruebas de disolución de una gran variedad de productos farmacéuticos. Ambos aparatos se evalúan usualmente muy temprano en el proceso de desarrollo de pruebas.

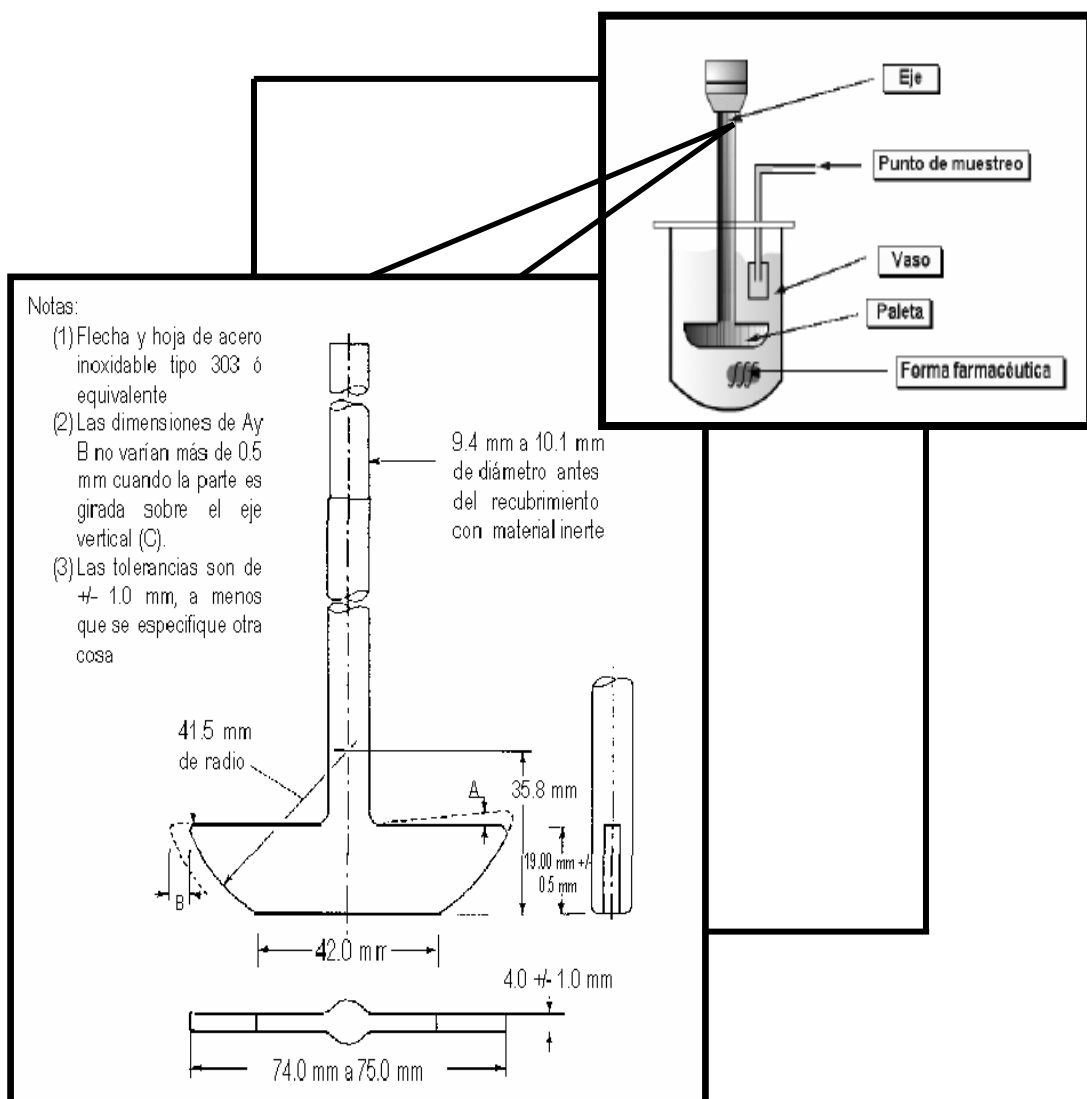


Fig. 5. Aparato 2. Método de paletas. \*



■ **Aparato 3. Cilindro oscilante.** Una ventaja establecida del cilindro oscilante es la facilidad con que se pueden efectuar los cambios de pH en función del tiempo. Este aparato es más aplicable a las formas de dosis no desintegrantes (liberación prolongada) o liberación retardada (capa entérica).

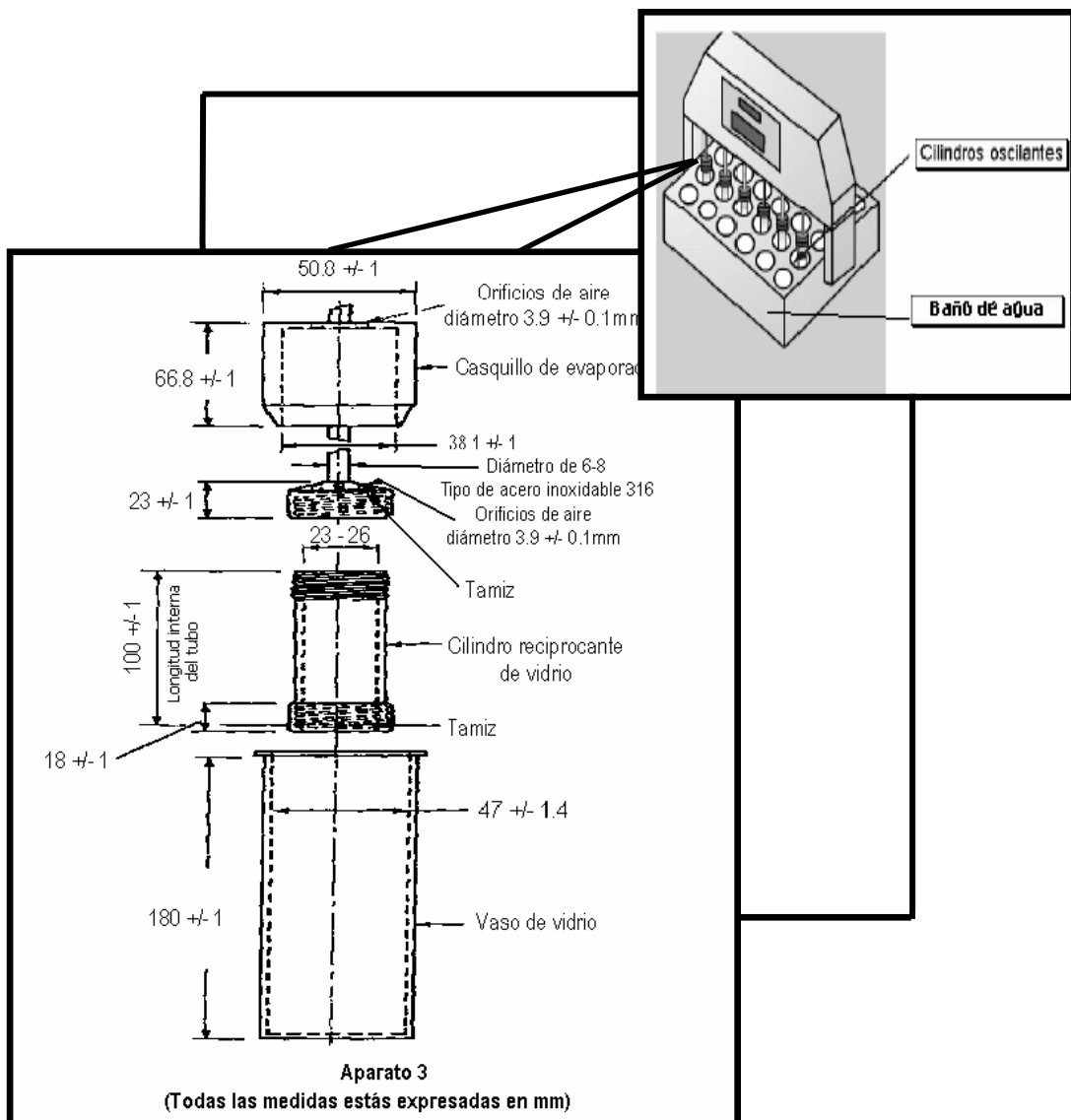


Fig. 6. Aparato 3. Cilindro oscilante.\*



■ **Aparato 4. Celda de flujo continuo.** Utilizado para productos CR, ER, RR. Las ventajas del aparato de celda de flujo continuo que son citadas más a menudo son, la capacidad de probar fármacos de solubilidad acuosa muy baja en el modo de circuito abierto, y la capacidad de cambiar convenientemente el pH durante la prueba. Las desventajas de este aparato son las dificultades operacionales de preparar grandes volúmenes de medio para operación en el modo de circuito abierto y el tiempo agregado en el arranque y limpieza del sistema.

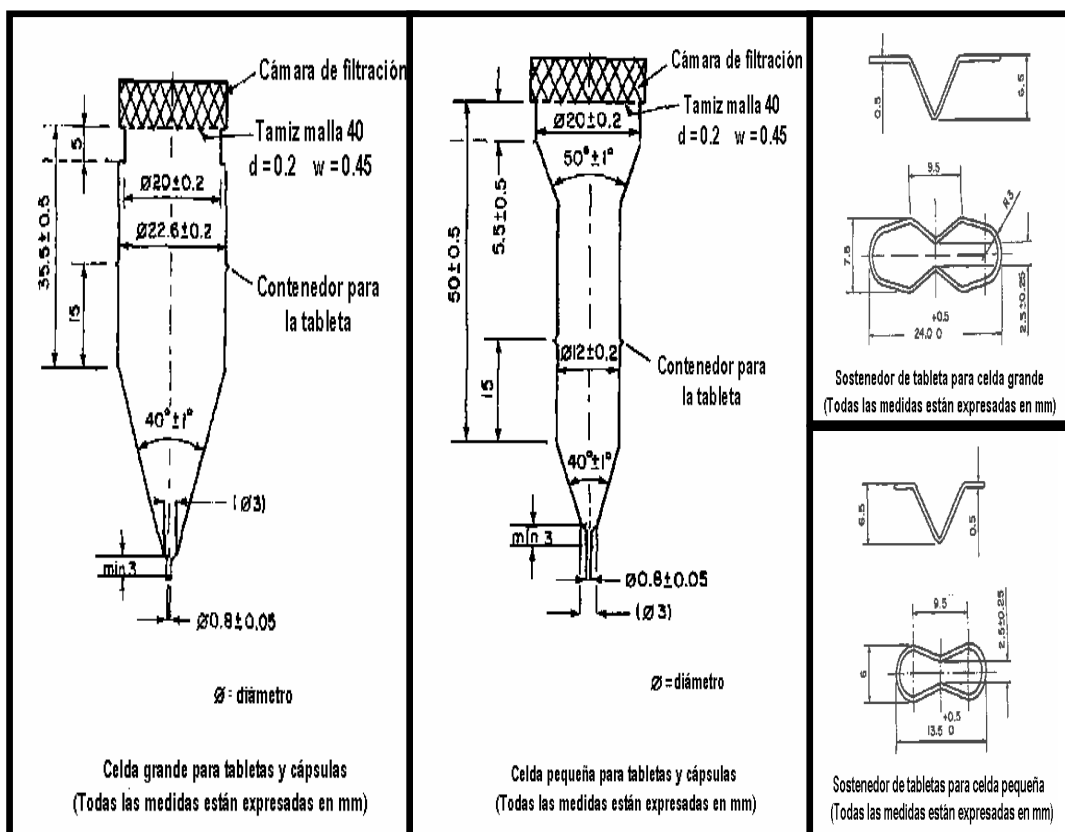


Fig. 7. Aparato 4. Celda de flujo continuo.\*



- **Aparato 5. Paleta sobre disco.** Este aparato es utilizado en el caso de productos transdérmicos (e.g., parches). Utiliza un disco que sujeta el parche transdermal y el sistema es igual al aparato 2.

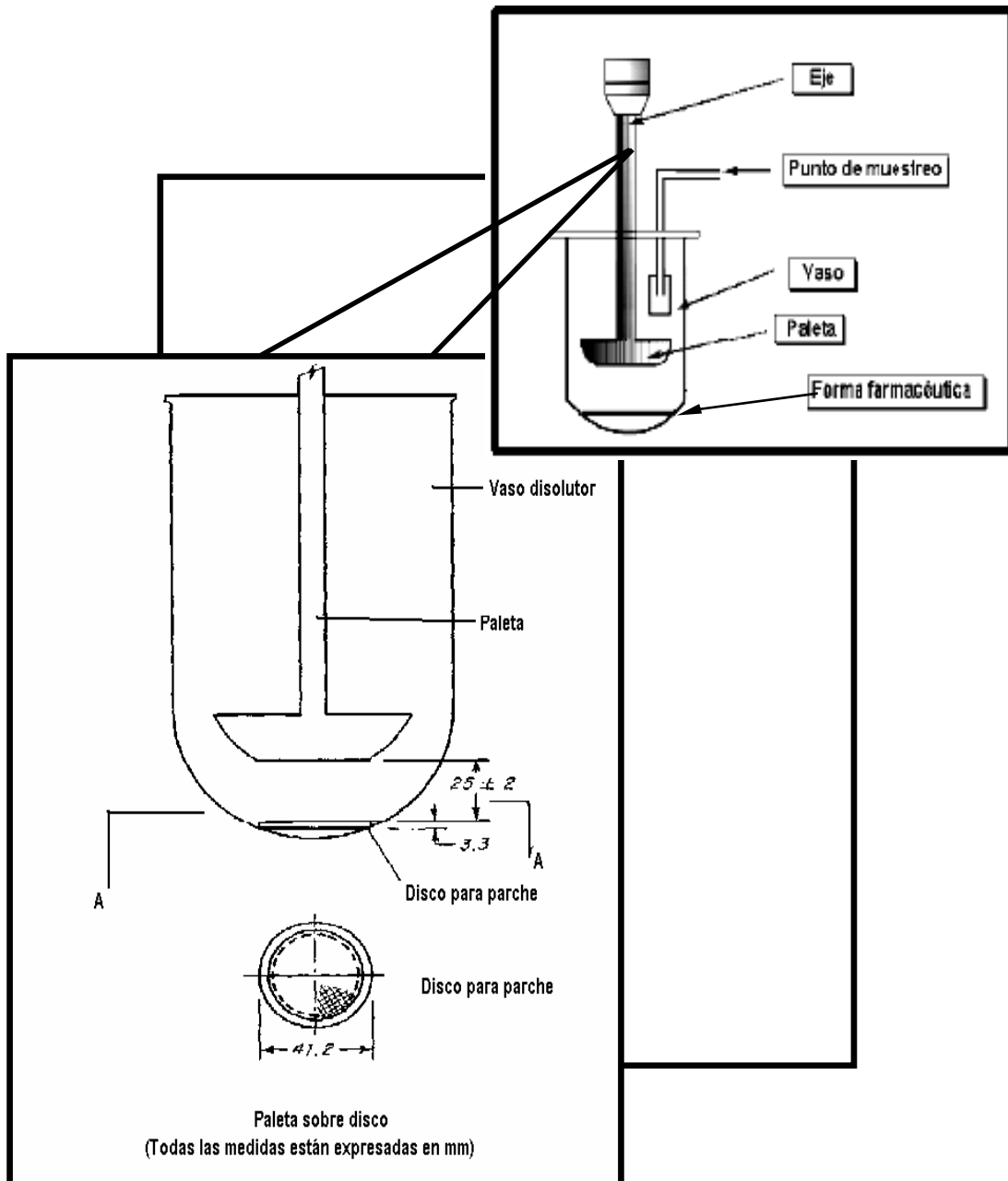


Fig. 8. Aparato 5. Paleta sobre disco.\*





- **Aparato 6. Cilindro.** Utiliza sistema de cilindro en lugar de canasta, lo demás igual al aparato 1. Utilizado especialmente para productos transdérmicos.

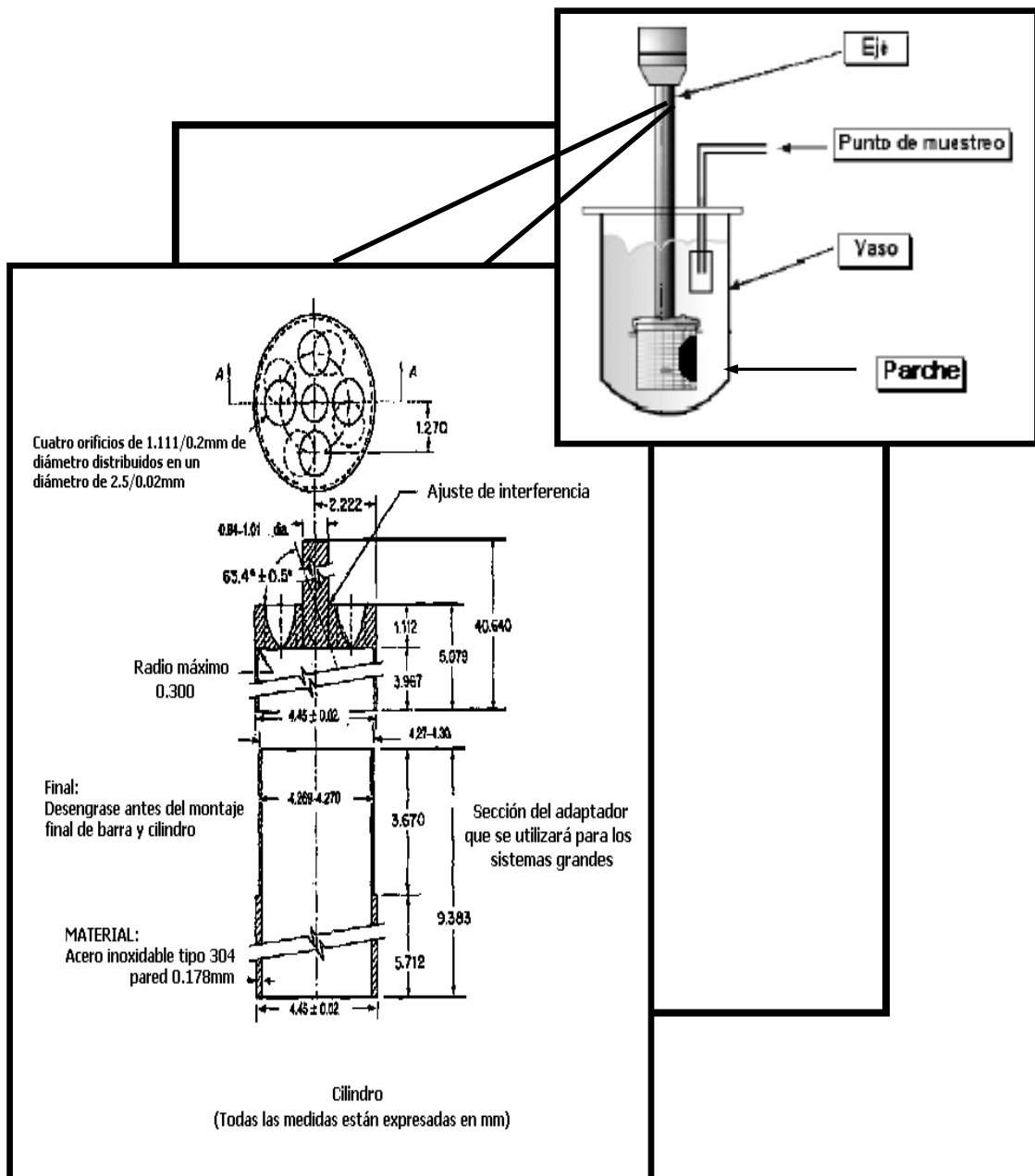


Fig. 9. Aparato 6. Cilindro.\*



**Aparato 7. Soporte de oscilación vertical.** Utilizado en el caso de productos transdérmicos y ER. Similar al aparato 3 modificando la posición del parche.

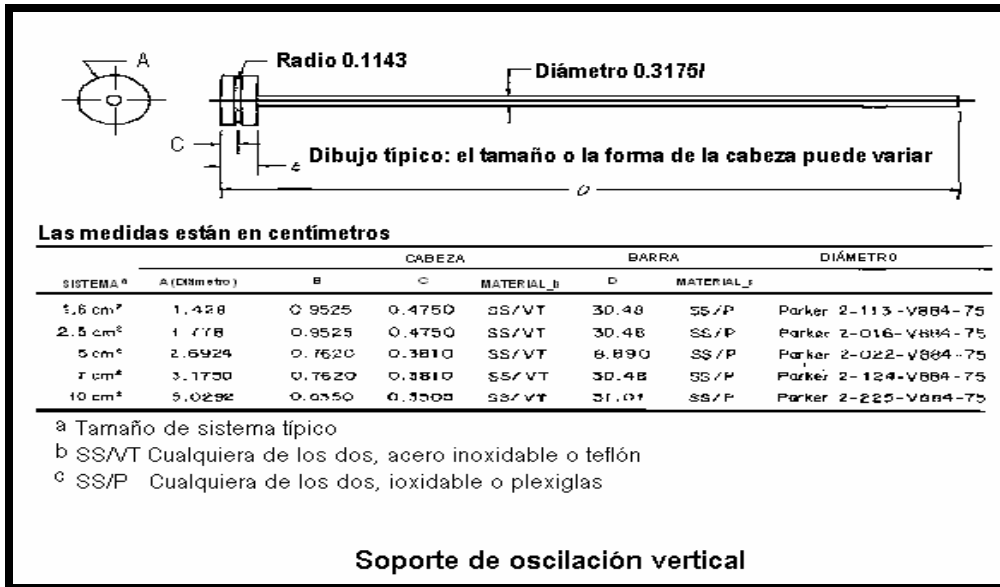


Fig. 10. Aparato 7. Soporte de oscilación vertical. \*

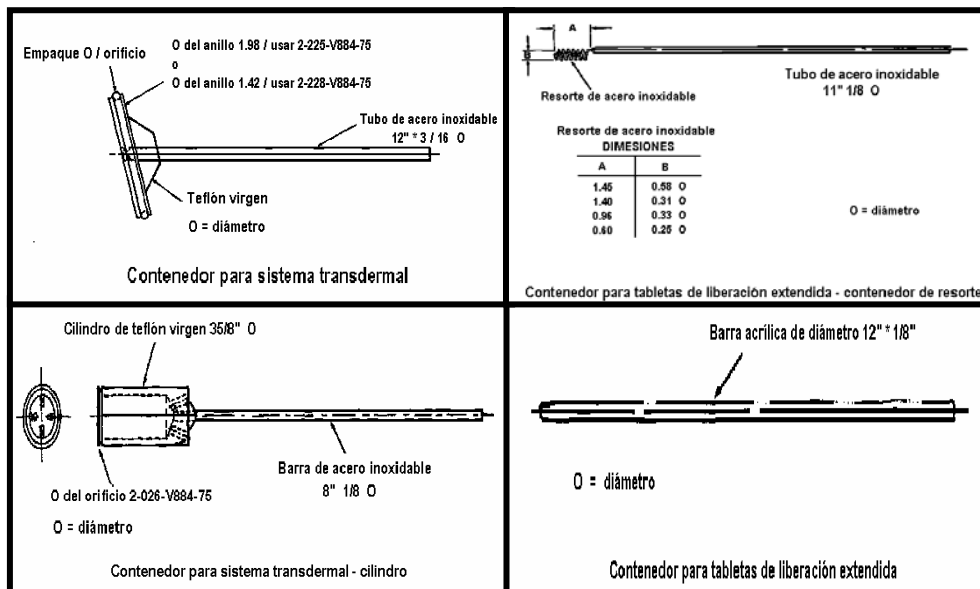


Fig. 11. Diferentes soportes de oscilación vertical. \*

\* Figura tomada y modificada de: [www.paho.org](http://www.paho.org)



### 1.3.5.3.2 SELECCIÓN DEL VOLUMEN Y MEDIO DE DISOLUCIÓN.

Guidance, FDA, 1997.

Durante el desarrollo del método para perfiles de disolución la FDA recomienda que la disolución se evalúe bajo condiciones fisiológicas, si es posible. Esto permite la interpretación de los datos de disolución en relación al rendimiento in vivo del producto. Sin embargo, no hace falta una adherencia estricta al ambiente gastrointestinal en las pruebas de disolución rutinarias. Las condiciones de prueba deberán basarse en las características fisicoquímicas del fármaco y las condiciones ambientales a las cuales podría estar expuesta la forma de dosificación tras la administración oral.

La FDA recomienda que se utilicen medios acuosos dentro del rango de pH de 1.2 a 6.8. Generalmente los siguientes medios se prueban:

- ☀ HCl 0.1N (pH 1.2)
- ☀ Buffer de acetatos USP a pH 4.5
- ☀ Buffer de fosfatos a pH 6.8
- ☀ Fluido gástrico simulado a pH 1.2 (sin enzimas)
- ☀ Fluido intestinal simulado a pH 6.8 (sin enzimas)

El uso de agua como medio de disolución no se recomienda porque las condiciones de prueba como el pH y la tensión superficial pueden cambiar dependiendo de donde se obtuvo el agua, y también



pueden cambiar durante la prueba de disolución misma debido a la influencia de los ingredientes activos e inactivos.

El uso de enzimas en los fluidos simulados gástrico e intestinal dependerá del producto y se debe justificar. Por ejemplo para cápsulas de gelatina se usan enzimas (pepsina para el gástrico y pancreatina para el intestinal) para disolver la película que puede formarse e impide la disolución del fármaco.

Algunos productos farmacéuticos son sensibles al aire disuelto en el medio de disolución y necesitarán de aireación, al menos que se demuestre que la formulación no es sensitiva a la presencia de aire en el medio.

#### 1.3.5.3.2.1 CONDICIONES DE "SINK" Remington, 2003, p. 765

El ensayo de disolución debe realizarse en condiciones de mínima concentración, condiciones sumidero o de gradiente máximo ( "sink" ), de modo que la concentración de fármaco en el medio de disolución no rebase nunca el 15% de su concentración a saturación.

Sink es cuando:  $C_t \ll C_s$  donde:

- $C_t$  = concentración a tiempo
- $C_s$  = concentración de saturación o máxima solubilidad

Para mantener las condiciones de sink típicamente  $C_t$  debe ser menor del 10% de  $C_s$ .



Las condiciones de "sink" son recomendadas pero no obligatorias.

Para simular la condición de sumidero in vivo, las pruebas de disolución in vitro en general se llevan a cabo por medio del empleo de un gran volumen del medio de disolución o de un mecanismo por el cual el medio de disolución es repuesto en forma constante con solvente fresco a una velocidad especificada, de modo que la concentración del soluto nunca llega a más del 15% de su solubilidad máxima. Si se mantiene este parámetro, se dice que la prueba de disolución está siendo realizada en condiciones de sumidero, es decir sin influencia del gradiente de concentración.

El criterio de USP para las condiciones finales es que la concentración saturada del fármaco es igual o mayor que tres veces la concentración de una tableta completamente disuelta. Regularmente el volumen del medio de disolución es de 500, 900 o 1000ml.

#### **1.3.5.3.3 SELECCIÓN DE LA VELOCIDAD DE AGITACIÓN** Guidance FDA, 1997, Apéndice A.

Por lo general, se deberán mantener condiciones de agitación suave durante las pruebas de disolución para permitir un poder discriminatorio máximo y para detectar productos con un pobre rendimiento in vivo. Utilizando el método de canastilla, la velocidad de agitación común es de 50-100 rpm; con el método de paletas, la velocidad de agitación es de 50-75 rpm. Pocas veces se utilizan los



aparatos 3 y 4 para evaluar la disolución de formas farmacéuticas de liberación inmediata. Guidance for industry, 1997, p 15.

#### **1.3.5.3.4 TEMPERATURA DEL MEDIO DE DISOLUCIÓN** Parrot, 1970, p. 161.

La USP-NF especifica que la temperatura del medio de disolución debe ser de 37°C ( $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ). A través de baños comerciales de agua puede encontrarse un desarrollo estandarizado, así que se supone que la temperatura del baño y la del vaso son las mismas. Cuando no se cuente con un implemento o dispositivo y sea imposible mantener la temperatura del vaso a 37°C se puede aumentar la temperatura a 40°C.

En general las sustancias se disuelven más rápido si al sistema se le aplica calor. Si una sustancia absorbe calor en el proceso de disolución, su solubilidad incrementará por un aumento en la temperatura, esto a vez suministra un incremento en el gradiente de concentración, de lo cual resulta un incremento en la velocidad de disolución. Al incrementar la temperatura el movimiento cinético y la difusión del soluto en la solución aumentan, acelerando así la velocidad de disolución.

A continuación se presenta una tabla que resume los parámetros de las pruebas de disolución y los rangos típicos:



CONDICIÓN DE OPERACIÓN	RANGO TÍPICO
Medio de disolución	Depende de las propiedades fisicoquímicas del fármaco
Medio de desgasificación	Si es necesario
Aparatos	Depende de la forma farmacéutica. Consultar tabla 2
Velocidad de agitación	50 rpm paleta 100 rpm canasta
Temperatura	$37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
Volumen del medio	500 a 900mL
Método de detección	HPLC/ Espectrofotometría/ Otro

Tabla 1. Rangos típicos para las condiciones de operación para la prueba de disolución.



APARATO	SISTEMAS DE LIBERACIÓN ORAL				PRODUCTOS TRANSDÉRMICOS
	INMEDIATA (IR) <sup>1</sup>	EXTENDIDA (ER) <sup>2</sup>	RETARDADA (RR) <sup>3</sup>	CONTROLADA (CR) <sup>4</sup>	
CANASTILLA	✓	✓	✓		
PALETAS	✓	✓	✓		
CILINDRO OSCILANTE		✓	✓	✓	
CELDA DE FLUJO CONTINUO		✓	✓	✓	
PALETA / DISCO					✓
CILINDRO					✓
SOPORTE DE OSCILACIÓN VERTICAL			✓		✓

Tabla 2. Aparatos utilizados en la prueba de disolución para productos de liberación oral y productos transdérmicos.

1. Liberación inmediata. Estos incluyen los sistemas de liberación convencionales: cápsulas de gelatina dura y gelatina blanda, comprimidos sin cubierta y comprimidos con cubierta simple.
2. Liberación extendida. Estas formas incluyen: matrices inértres, lipídicas o hidrofílicas; microcápsulas, minigránulos, pellets o microesferas.
3. Liberación retardada. Son las formas con cubierta entérica, en las que el principio activo se libera en un lugar concreto del intestino delgado.
4. Liberación controlada. Estas formas incluyen: Formas de liberación sostenida o continuada (bombas osmóticas), de liberación prolongada (matrices inértres, lipídicas o hidrofílicas; microcápsulas, minigránulos, pellets o microesferas) y de liberación acelerada (comprimidos efervescentes en contacto con la saliva, tabletas liofilizadas o liotabs).





### 1.3.5.3.5 DURACIÓN DE LA PRUEBA DE DISOLUCIÓN <sup>NOM-177</sup>

Durante el desarrollo, se construyen perfiles de disolución con múltiples tiempos de muestreo.

La NOM-177-1998 establece que para realizar el perfil de disolución, deben seleccionarse por lo menos cinco tiempos de muestreo (excepto el tiempo cero) que permitan caracterizar apropiadamente la curva ascendente y la fase de la meseta. Únicamente dos puntos estarán en la meseta de la curva y los otros tres distribuidos entre la fase ascendente y de inflexión. Cuando el 85% del fármaco se disuelve en un tiempo menor o igual a 15 minutos, no es necesario caracterizar la curva ascendente, pero los tiempos de muestreo deben estar suficientemente espaciados a lo largo del perfil de disolución.

Durante la realización del perfil de disolución, los muestreos deben realizarse, dentro de los tiempos establecidos en el método de evaluación con una variación que no afecte los resultados de la prueba. Utilizar una curva de calibración de la sustancia de referencia para calcular por interpolación la concentración del fármaco disuelto.  
NOM 177, 1998, P. 10.

Generalmente, la duración de la prueba para productos de liberación inmediata es de 30 a 60 minutos. Durante el desarrollo se deben tomar muestras cada 10-15 minutos hasta que más del 80% del fármaco esté en solución. Pruebas con una duración menor de 30 minutos se deben justificar.



Para productos de liberación prolongada se deben tomar muestras cada 2 horas hasta que por lo menos el 80% del fármaco esté en solución.

Después de que se ha validado la metodología de disolución:

- ✱ Para productos de liberación inmediata solo se requiere que la prueba tenga un tiempo de muestreo.
- ✱ La prueba de dos puntos puede ser requerida para fármacos de liberación inmediata de índice terapéutico estrecho.
- ✱ Para productos de liberación prolongada se requieren por lo menos 3 puntos de muestreo cubriendo el perfil de disolución.

#### **1.3.5.3.6 COMPARACIÓN DE LOS PERILES DE DISOLUCIÓN** <sup>NOM</sup>

177, 1998, ; Guidance FDA, 1997.

Hasta hace poco tiempo, se han utilizado especificaciones y pruebas de disolución de punto único para evaluar cambios posteriores a la aprobación. Ante ciertos cambios menores, la prueba de disolución de punto único puede ser adecuada para asegurar que no haya cambios de calidad y rendimiento del producto. Para cambios más importantes (cambios en la escala, en los componentes, en el proceso de fabricación, etc.), se recomienda una comparación de perfiles de disolución realizado bajo condiciones idénticas de operación antes y después del cambio. Se han propuesto tres métodos para comparar los perfiles de disolución:



- ✱ Modelo independiente
- ✱ Modelo Multivariado Independiente
- ✱ Modelo dependiente

Cabe mencionar que este trabajo fue desarrollado bajo las especificaciones establecidas en la NOM-177-SSA1-1998, la cual refiere el Modelo Independiente utilizando un Factor de Similitud para realizar la comparación de los perfiles de disolución del producto de referencia con el producto de prueba.

### Modelo Independiente

El modelo independiente es la forma más común y simple de comparar los perfiles de disolución. Este modelo usa el Factor de Diferencia,  $f_1$  y el Factor de Similitud,  $f_2$  para comparar los perfiles.

#### A. Factor de Diferencia

El Factor de Diferencia,  $f_1$ , es el porcentaje de la diferencia entre la dos curvas a cada tiempo y es una medida del error relativo entre las dos curvas.

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{t=1}^n (R_t - T_t)}{\sum_{t=1}^n R_t} \right\} \times 100\%$$



donde :

- $n$  = número de puntos temporales
- $R_t$  = valor de disolución del lote de referencia en el tiempo  $t$
- $T_t$  = valor de disolución del lote de prueba en el tiempo  $t$
- Idealmente, un valor de cero para  $f_1$  indica que las dos curvas son iguales. Desde el punto de vista práctico esto no es posible. Por lo tanto, un valor entre 0 y 15 para  $f_1$  es considerado aceptable.

## B. Factor de Similitud

El Factor de Similitud,  $f_2$ , es inversamente proporcional al promedio elevado al cuadrado de la diferencia entre los dos perfiles y determina la cercanía de los perfiles.

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

donde:

- Log = Logaritmo base 10
- $n$  = número de tiempos de muestreo
- $R_t$  = porcentaje disuelto promedio en el tiempo  $t$  del medicamento de referencia



- $T_t$  = Porcentaje promedio disuelto en tiempo  $t$  del medicamento de prueba

Un valor de 100 para  $f_2$  indica que las dos curvas son iguales. Desde el punto de vista práctico esto no es posible. Por lo tanto, un valor entre 50 y 100 para  $f_2$  es considerado aceptable.

Cuando se utiliza el factor de similitud  $f_2$  como procedimiento para comparar perfiles de disolución, es importante tomar en cuenta las siguientes condiciones:

- ✱ Se deben utilizar por lo menos 12 unidades en la determinación de cada perfil de disolución.
- ✱ Para usar datos de disolución promedio, CV del primer punto no debe ser mayor del 15% y en los demás puntos no debe ser mayor del 10%.
- ✱ La determinación de la disolución de los productos de prueba y de referencia debe hacerse bajo las mismas condiciones de operación. Los tiempos de tiempos de muestreo deben ser los mismos.
- ✱ Debido a que la prueba de  $f_2$  es sensible al número de puntos de disolución, se recomienda que un solo punto se incluya después que se ha disuelto el 85% del fármaco.



### 1.3.5.3.7 CORRELACIÓN IN VIVO/IN VITRO (IVIVC)

El valor de la disolución como herramienta de control de calidad para predecir la liberación del fármaco in vivo de un medicamento mejora significativamente si se establece una relación (correlación o asociación) in vitro - in vivo. De acuerdo a la FDA una correlación in vitro - in vivo es mostrar una relación entre 2 parámetros. Típicamente se obtiene una relación entre la velocidad de disolución in vitro y la velocidad de entrada in vivo.

La prueba in vitro sirve como herramienta para distinguir entre medicamentos aceptables e inaceptables. Los productos aceptables son bioequivalentes, en términos de la liberación del fármaco in vivo, mientras que los productos inaceptables no lo son. Guidance, 1997. p. 1.

Una vez que el método de velocidad de disolución se ha puesto a punto debe servir para correlacionar los resultados de un experimento en laboratorio, el de velocidad de disolución (método in vitro) con las características biofarmacéuticas de absorción (método in vivo). Esta correlación se puede hacer en aquellas formulaciones con principios activos en los que la absorción tiene como etapa limitante la velocidad de disolución. Se pueden intentar correlacionar varios parámetros como son velocidad de disolución in vitro y velocidad de absorción in vivo, porcentaje de fármaco disuelto y porcentaje absorbido, cantidad de fármaco disuelto y concentraciones plasmáticas.



En general al aumentar la velocidad de disolución suele aumentar la absorción y, por ello, la biodisponibilidad. En aquellos principios activos cuyo proceso de absorción oral es rápido, pequeñas modificaciones en la formulación que alteren la velocidad de disolución reflejan cambios en la absorción y en las curvas de niveles plasmáticos obtenidos. Sin embargo, en aquellos fármacos en el que el proceso de absorción se produce lentamente (en los que la absorción es la etapa limitante), alteraciones en las formulaciones que afecten la disolución del principio activo puede que no se vean reflejadas en las características in vivo.

Existen numerosos casos de medicamentos en los que no hay una buena correlación entre los ensayos de cesión in vitro y las características de biodisponibilidad in vivo. En estos casos conviene estudiar todas las posibles modificaciones que se pueden realizar en los ensayos de disolución in vitro (incorporación de tensoactivos con principios activos muy poco solubles, distintos fluidos acuosos, etc.) y en algunos casos se puede acabar concluyendo que, al no existir correlación en esas formulaciones, no tiene sentido realizar ensayos de disolución in vitro. Vila, 2001, p.40-42.

Con una correlación in vitro – in vivo se pretende, en primer lugar, obtener una prueba de disolución que sirva como sustituto del estudio de bioequivalencia durante el escalado o cambios en el sitio de manufactura y equipos, y, en segundo lugar, ajustar especificaciones de disolución para cada formulación en particular.



Debido a la importancia del estudio de los perfiles de disolución es necesario contar con técnicas validadas que permitan obtener resultados confiables durante el desarrollo y optimización del proceso de fabricación de formas farmacéuticas.

### **1.3.6 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS** García, 2001, p. 7-9.

La vocación de la industria farmacéutica desde siempre ha sido producir medicamentos de calidad y con total garantía de seguridad. Con los años, se han ido desarrollando recomendaciones e incorporando requerimientos que han evolucionado hasta una reglamentación estricta. La industria farmacéutica disfruta de una imagen de calidad excelente. Al elaborar sus productos destinados a sarar la enfermedad, salvar vidas o mejorar la calidad de vida, no puede haber el mínimo margen de error. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos de control y fabricación, se exige una mejora continua y máximas garantías de calidad. Y es en el avance para conseguir un total dominio de la calidad, cuando surge el concepto de validación.

La calidad del medicamento se consigue en todos y cada uno de los pasos de su proceso de producción, desde su investigación hasta el último análisis sobre el producto final. La garantía de la calidad de un producto deriva de una cuidadosa atención a todos aquellos factores que pueden influir en su calidad: selección de sus componentes y materiales, diseño de producto y proceso adecuado y control estadístico del proceso. Alcanzar este nivel de calidad de los medicamentos requiere garantizar que cada una de las etapas de la





producción se realiza de forma adecuada y cumpliendo aquellos parámetros de calidad que se han establecido previamente. Y este máximo grado de seguridad tan sólo lo proporcionan los procesos de validación.

Actualmente la industria farmacéutica está especialmente interesada en la validación de métodos analíticos debido al constante incremento de nuevos productos que tienen que ver con la salud y que requieren de métodos analíticos confiables.

Una parte integral en el desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad. Mediante la validación del método se establece si los parámetros de calidad satisfacen los requisitos de una aplicación analítica concreta. Para ello, se requiere experimentación y comparación con valores de referencia bien conocidos. Los objetivos de una validación analítica son: Romero, 2001, p. 9-11.

- ✱ Garantizar la coherencia entre los resultados obtenidos y las necesidades.
- ✱ Asegurar la calidad y constancia de la misma en la información obtenida.
- ✱ Caracterizar métodos y herramientas analíticas.
- ✱ Facilitar auditorias de calidad.
- ✱ Fundamentar la transferencia (de métodos y herramientas) y la armonización de los resultados entre los laboratorios,



con el objeto de conseguir el reconocimiento mutuo entre laboratorios.


Por lo tanto, la validación de métodos analíticos es una de las herramientas con las que se cuenta para asegurar la calidad de los productos y procedimientos por lo cual, la adopción de un nuevo método analítico debe estar soportado por suficientes datos de laboratorio y una validación bien documentada.

#### 1.3.6.1 CONCEPTO DE VALIDACIÓN

La NOM-177-SSA1-1998 y la Guía de Validación del Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos coinciden en definir la validación como “la evidencia experimental documentada de que un procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado”.

#### 1.3.6.2 TIPOS DE VALIDACIÓN


Hoy existen básicamente cuatro aproximaciones a la validación: validación retrospectiva, validación prospectiva, validación concurrente y revalidación. García, 2001, p. 14; Rojo, 2002, p. 15-19.

 **Validación retrospectiva.** Es la evidencia documentada basada en los datos acumulados de producción (datos




históricos), análisis y control de un producto que ya está siendo fabricado.

La validación retrospectiva es la forma más ampliamente utilizada para validar un proceso que está controlado y en donde se tienen evidencias de la confiabilidad de los datos generados durante el proceso y sus resultados analíticos.

 **Validación prospectiva.** Es la evidencia documentada realizada antes de que el producto salga al mercado, demostrando que las operaciones se encuentran bajo control y que a través de un proceso predeterminado se obtienen productos con la calidad diseñada. Se le considera como una parte integral de un programa cuidadosamente planeado y lógico del desarrollo de un producto o proceso.

Un programa efectivo de validación prospectiva deberá de estar apoyado por una documentación extensa generada desde el desarrollo del producto hasta la producción industrial, obteniendo el historial del producto de manera completa; dicha documentación es llamada documentación maestra, la cual cuenta con reportes, procedimientos, protocolos, especificaciones, métodos analíticos y algunos otros documentos pertenecientes a la fabricación, los cuales pueden fundamentar los aspectos del proceso del producto.

 **Validación concurrente.** Es el estudio de un proceso en forma científica y por etapas a un producto que ya está en el mercado. Este tipo de validación es usual en ciertas situaciones



excepcionales, tales como el escalamiento de un proceso de fabricación, en lotes de reproceso y en operaciones tempranas de un proceso continuo.

Este tipo de validación está conducido a productos que pretenden ser distribuidos para su comercialización probándose de manera minuciosa el lote para demostrar el desempeño y cumplimiento de las especificaciones del producto y los criterios de aceptación de validación.

■ **Revalidación.** Es la repetición parcial o total de un programa de validación con arreglo al grado de las alteraciones introducidas en el procedimiento ya validado.

Según la Federación Internacional Farmacéutica ( FIP ), por lo general una revalidación es necesaria:

- ✦ En caso de modificación de la composición, del procedimiento o del tamaño de lote.
- ✦ En caso de cambiar de fabricante o de la calidad de las materias primas.
- ✦ En caso de alteración en las instalaciones capaces de influir en el proceso.
- ✦ En caso de cambiar de instalaciones.
- ✦ Cuando se modifican parámetros en el proceso.
- ✦ Después de revisiones a fondo en máquinas y aparatos.
- ✦ Cuando se modifican los métodos de control.
- ✦ Y cuando así lo exijan los resultados de los controles en proceso y los controles finales.



La revalidación dependerá de la naturaleza del cambio o como impacta sobre los aspectos de producción que previamente se han validado. Puede no ser necesario revalidar un proceso solamente porque una circunstancia ha cambiado.

### **1.3.6.3 TIPOS DE MÉTODOS ANALÍTICOS A SER VALIDADOS**

A partir del criterio de que no existe un modelo único para validar y de que existe una gran variedad de métodos analíticos. La validación de los métodos analíticos se fundamenta en la determinación de diversos parámetros, que se aplican de acuerdo con alguna de las siguientes categorías a la que pertenezca:

- ✱ Categoría I: Método analítico para la cuantificación de los componentes mayoritarios o principales de fármacos a granel ó principios activos (incluyendo conservadores) en productos farmacéuticos terminados.
- ✱ Categoría II: Métodos analíticos para la determinación de impurezas en fármacos a granel o productos de degradación en el producto farmacéutico terminado. Estos métodos incluyen ensayos cuantitativos o pruebas límite.
- ✱ Categoría III: Métodos analíticos para la determinación de características de desempeño (disolución, medicamentos de liberación, etc.).
- ✱ Categoría IV: Pruebas de identificación.



PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	CONTENIDO/ POTENCIA VALORACIÓN	PRUEBAS DE IMPUREZAS		IDENTIFICACIÓN
		CONTENIDO/ VALORACIÓN	LÍMITE	
PRECISIÓN	+	+	*	-
EXACTITUD	+	+	-	-
ESPECIFICIDAD	+	+	+	+
LÍMITE DE DETECCIÓN	-	-	+	-
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	-	+	-	-
LINEALIDAD	+	+	-	-

Tabla 3. Características mínimas consideradas para validar un método analítico según su tipo. En esta tabla: (+) debe ser evaluado, (-) no debe ser evaluado y (\*) puede ser evaluado, dependiendo de los requerimientos del método. <sup>CNQFB, 2002, p.19.</sup>

#### 1.3.6.4 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO <sup>CNQFB, 2002; NOM-177; ICH-Q2A, 1995; ICH-Q2B,1999.</sup>

La validación del método analítico desarrollado para cuantificar el clorhidrato de propafenona en tabletas debe evaluar al menos los siguientes parámetros de desempeño:



#### **1.3.6.4.1 Linealidad**

##### **1.3.6.4.1.1 Linealidad del sistema.**

La linealidad del sistema es la habilidad del mismo para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son directamente proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado.

Para evaluar la linealidad del sistema un analista debe preparar una curva de calibración con al menos 5 niveles de concentración por triplicado, preparadas a partir de una misma solución stock.

Los parámetros estadísticos que deben considerarse para determinar si el sistema es lineal, son: coeficiente de correlación ( $r$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), la pendiente ( $m$ ), la ordenada al origen ( $b$ ) y el coeficiente de variación global.

Es conveniente trazar la gráfica de concentración versus la respuesta analítica (absorbancia).

##### **1.3.6.4.1.2 Linealidad del método.**

La linealidad del método es la habilidad del mismo para asegurar que la relación entre concentración real y la concentración estimada es directamente proporcional y lineal en un intervalo de concentraciones determinadas.



Para evaluar la linealidad del método un analista debe preparar una curva de calibración con al menos 5 niveles de concentración de placebos cargados, por triplicado.

Trazar la gráfica concentración adicionada (x) versus concentración estimada (y).

Los parámetros estadísticos que deben considerarse para determinar si el método es lineal son: coeficiente de correlación (r), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), la pendiente (m), la ordenada al origen (b) y el coeficiente de variación global.

#### **1.3.6.4.2 Precisión**

La precisión es el grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto o referencia.

La precisión del sistema debe ser evaluada con el coeficiente de variación del factor de respuesta obtenido de los datos de linealidad, este factor debe ser menor o igual al 2%.

La precisión del método debe ser evaluada realizando la determinación de la concentración de tres diferentes muestras, con seis ensayos cada una.

#### **1.3.6.4.3 Exactitud**

La exactitud es el grado de concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.





La exactitud del método debe ser evaluada realizando la determinación de la concentración de tres diferentes muestras, con seis ensayos cada una.

A diferencia de la precisión que describe la magnitud de los errores aleatorios, la exactitud establece la magnitud de los errores sistemáticos, en general, se requiere que el valor medido no difiera significativamente del valor de referencia.

#### **1.3.6.4.4 Límite de detección** CNQFB, 2002.

El límite de detección es la concentración mínima del analito en una muestra, que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

El límite de detección teórico puede ser estimado con base en la curva de calibración y la desviación estándar de regresión, utilizando la siguiente fórmula:

$$LD = 3.3 * S_{y/x} / b_1$$

#### **1.3.6.4.5 Límite de cuantificación** CNQFB, 2002.

El límite de cuantificación es la concentración mínima del analito en una muestra, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones de operación establecidas.



El límite de cuantificación teórico puede ser estimado con base en la curva de calibración y la desviación estándar de la regresión, utilizando la siguiente fórmula:

$$LC = 10 * S_{y/x} / b_1$$

La concentración teórica obtenida, a partir de la fórmula, debe ser subsecuentemente validada, realizando un ensayo por sextuplicado de un placebo cargado que presente la concentración estimada. Los resultados obtenidos de concentración deben ser cuantificados con precisión y exactitud.

#### **1.3.6.4.6 Repetibilidad**

La repetibilidad entre días es la precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes (diferentes días) realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y método.

#### **1.3.6.4.7 Reproducibilidad**

La reproducibilidad es la precisión de un método analítico, expresada para la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo diferentes condiciones de análisis (diferentes analistas, instrumentos, laboratorios, etc.).

Para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad se debe evaluar el efecto de los eventos aleatorios en la precisión del método



analítico, tales como los días (repetibilidad), los analistas o los instrumentos (reproducibilidad). Debe analizarse una muestra homogénea del producto, por lo menos por triplicado para probar cada condición.

#### **1.3.6.4.8 Sensitividad**

La sensitividad de un método analítico se define como la mínima diferencia entre la concentración del analito contenido en una muestra que genera una diferencia significativa en la respuesta analítica bajo condiciones de análisis establecidas.

#### **1.3.6.4.9 Estabilidad de la muestra procesada**

La estabilidad de la muestra procesada es la propiedad de una muestra, preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.

Para determinar la estabilidad se debe procesar hasta la etapa preestablecida por lo menos por triplicado una muestra homogénea. Fraccionar cada una de las preparaciones de acuerdo a las condiciones de almacenaje de interés. Terminar el análisis de una de las fracciones de cada preparación. Proseguir el análisis de cada una de las fracciones al término de cada condición de almacenaje, utilizando una solución de referencia recientemente preparada. La determinación debe ser efectuada por el mismo analista.



#### **1.3.6.4.10 Robustez**

La robustez es la capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros normales de operación del método. La robustez provee una indicación de la fiabilidad del método en condiciones de operación normales.

#### **1.3.6.4.11 Tolerancia**

La tolerancia es la reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos, por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones normales de operación como pueden ser: equipos columnas, etc.

#### **1.3.6.5 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN**

Los parámetros de validación fueron evaluados de acuerdo a lo establecido en la Guía de Validación del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C., edición 2002 así como en la NOM-177-SSA1-1998. Los criterios de aceptación se muestran en la siguiente tabla:



PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	FACTOR DE EVALUACIÓN	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Linealidad del Sistema	$r$ (coeficiente de correlación) $r^2$ (coeficiente de determinación) IC( $B_0$ ) (intervalo de confianza de la ordenada al origen)	$r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ IC( $B_0$ ) debe incluir el cero
Precisión del Sistema	C.V.(coeficiente de variación)	C.V. $\leq$ 2%
Linealidad del Método	$r$ (coeficiente de correlación) $r^2$ (coeficiente de determinación) IC( $B_1$ ) (intervalo de confianza de la pendiente) IC( $B_0$ ) (intervalo de confianza del intercepto) IC( $\mu$ ) (intervalo de confianza de la media) C.V.(coeficiente de variación)	$r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ IC( $B_1$ ) debe incluir la unidad IC( $B_0$ ) debe incluir el cero IC( $\mu$ ) debe incluir el 100% C.V. $\leq$ 2%

Tabla 4. Especificaciones y criterios de aceptación para la validación del método analítico.



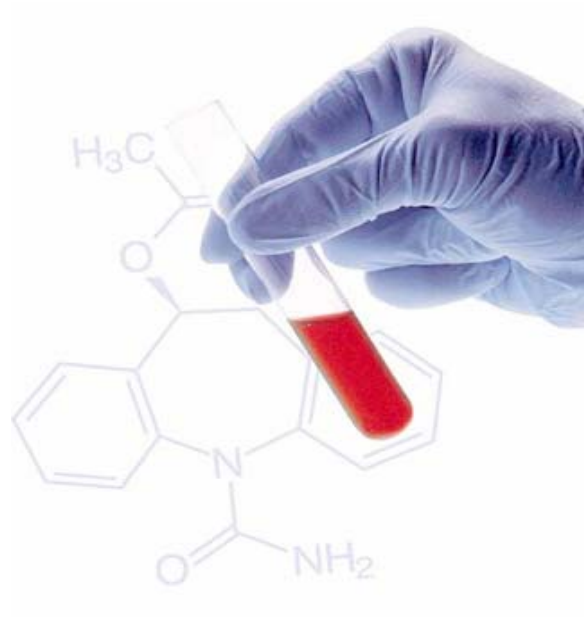
Continuación...

PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	FACTOR DE EVALUACIÓN	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Precisión del Método	C.V.(coeficiente de variación)	$C.V. \leq 2\%$
Exactitud del método	Prueba de t de Student % Recobro	$t_{cal} < t_{crítica} (\alpha=0.05, gl)$ 97-103%
Repetibilidad Reproducibilidad	C.V. (coeficiente de variación) Análisis de Variancia: Modelo Anidado	$C.V._{global} \leq 3\%$ $P > 0.05 (\alpha=0.05)$
Límite de cuantificación	Prueba de t de Student	$t_{cal} \leq t_{crítica} (\alpha=0.05, gl)$
Estabilidad de la muestra procesada	Análisis de Variancia: Multifactorial	$P > 0.05 (\alpha=0.05)$
Sensitividad	Diferencia Mínima Significativa (DMS)	$DMS < \text{DIFERENCIA DE LOS PROMEDIOS}$

Tabla 4. Especificaciones y criterios de aceptación para la validación del método analítico.

# 2

## DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO





Para el desarrollo experimental de este trabajo, se realizó previamente una investigación bibliográfica que nos permitiera conocer los métodos analíticos existentes para cuantificar clorhidrato de propafenona durante la prueba de disolución de tabletas. Los resultados de esta investigación muestran que la información sobre este tema es escasa, de tal manera que fue necesario desarrollar primeramente dicho método y posteriormente demostrar que es confiable y reproducible.

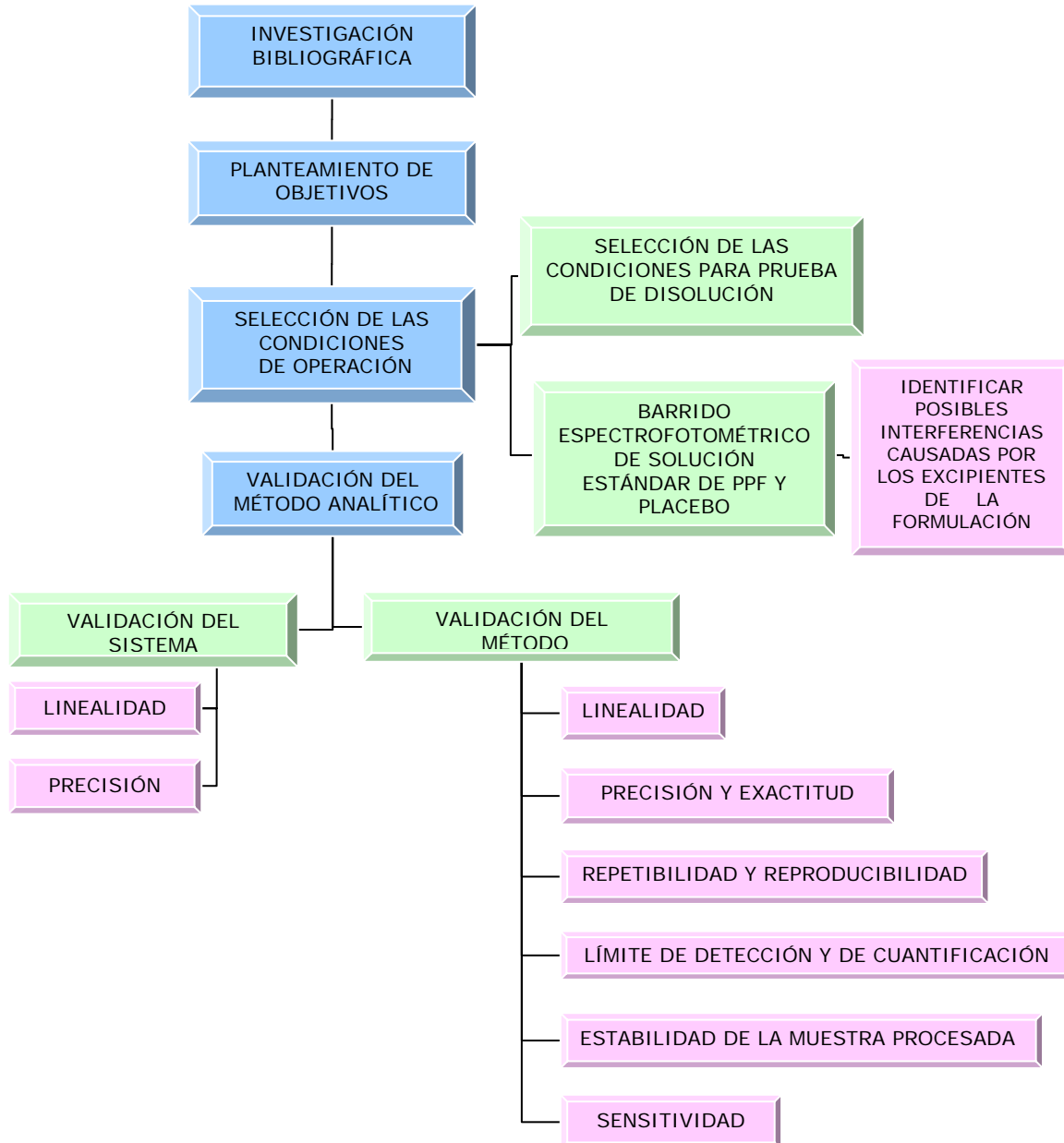
De acuerdo con el siguiente esquema (p. 63) para cumplir con nuestro objetivo, se seleccionaron las condiciones de operación, comenzando por las condiciones para la prueba de disolución (aparato, medio, temperatura del medio, velocidad de agitación y duración de la prueba) seguidas de las condiciones espectrofotométricas óptimas para la cuantificación.

Una vez establecidas las condiciones de trabajo, se validó el método analítico cumpliendo con los criterios de aceptación establecidos en la Guía de Validación del colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos y en la NOM 177-SSA1-1998, para demostrar que es confiable y reproducible.





## 2.0 DIAGRAMA DE FLUJO





## 2.1 EQUIPO Y MATERIAL

### 2.1.1 EQUIPO

El equipo utilizado se encuentra en el Laboratorio Experimental Multidisciplinario (LEM) Farmacia, de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo Uno.

- Analizador de humedad Mettler Toledo modelo HR73
- Balanza analítica Mettler Toledo modelo AB204-S
- Bomba de calentamiento Vankel modelo VK750D
- Disolutor automatizado Vankel modelo VK7000
- Espectrofotómetro UV-Vis Varian modelo Cary 1E
- pH- metro Conrning modelo 7
- Purificador de agua Millipore (Milli Q)

### 2.1.2 MATERIAL

- Agitadores de vidrio
- Celdas de cuarzo de 2mm de longitud
- Matraces volumétricos: 10, 25, 50, 250, 1000 y 2000mL
- Mortero con pistilo
- Papel filtro Whattman #41
- Pipetas volumétricas: 1, 2, 3, 4, 5 y 6mL
- Pipetas graduadas: 5 y 10mL
- Vasos de precipitados: 10, 50, 100, 250 y 1000mL



## **2.2 SELECCIÓN DE LAS CONDICIONES PARA LA PRUEBA DE DISOLUCIÓN**

### **2.2.1 APARATO DE DISOLUCIÓN Y VELOCIDAD DE AGITACIÓN**

Es importante mencionar que la prueba de disolución para clorhidrato de propafenona en tabletas no se encontró reportada en la literatura. En el desarrollo de una formulación, generalmente se desarrolla un método para la prueba de disolución preliminar. En ausencia de datos de biodisponibilidad la selección de las condiciones iniciales de prueba es de alguna manera arbitraria y se basa en las propiedades fisicoquímicas del fármaco, el diseño de la formulación y la dosis pretendida.

Las tabletas utilizadas como referencia para el desarrollo de este trabajo son sistemas de liberación inmediata, en las tabla 1 y 2 se observa que para este tipo de sistemas los aparatos sugeridos son canastilla y paletas a una velocidad de agitación de 100 y 50rpm respectivamente.

Para elegir de entre estos dos métodos para la prueba de disolución de tabletas de PPF se consultaron las monografías de la USP XXVII de otros fármacos pertenecientes al mismo grupo que la propafenona (Antiarrítmico) y que tienen características fisicoquímicas similares. En la tabla 5 se muestra la información obtenida y se observa que en los tres casos el aparato empleado es el de paletas y la velocidad de agitación es de 50rpm, por lo tanto se determinó utilizar estas mismas condiciones para el desarrollo de este trabajo.



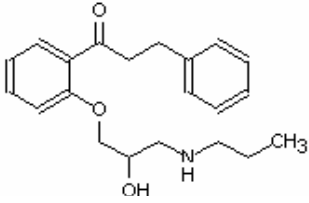
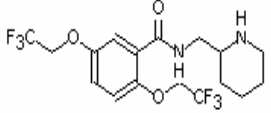
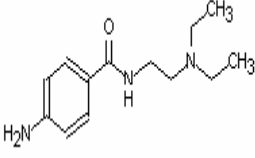
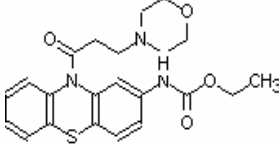
PRINCIPIO ACTIVO Y ESTRUCTURA QUÍMICA	pKa	APARATO	MEDIO Y VOLUMEN	VELOCIDAD DE AGITACIÓN
<b>CLORHIDRATO DE PROPAFENONA</b>  ° HCl	8.8	-	-	-
<b>ACETATO DE FLECAINIDA</b>  ° CH <sub>3</sub> COOH	9.3	USP II (Paletas)	HCl 0.075N/ 900mL	50 rpm
<b>CLORHIDRATO DE PROCAINAMIDA</b>  ° HCl	9.2	USP II (Paletas)	HCl 0.01N/ 900mL	50rpm
<b>CLORHIDRATO DE MORICIZINA</b>  ° HCl	6.4	USP II (Paletas)	HCl 0.1N/ 900mL	50rpm

Tabla 5. Monografías de la prueba de disolución de principios activos similares a la PPF.



### 2.2.2 MEDIO DE DISOLUCIÓN

Para la selección del medio de disolución se analizó el comportamiento de tabletas de clorhidrato de propafenona del producto de referencia (NORFENON<sup>®</sup>), en los siguientes medios de disolución a temperatura ambiente:

- HCl 0.1N
- Buffer de acetatos pH 4.5
- Buffer de fosfatos pH 6.8

Se observó que las soluciones de HCl y buffer de acetatos tienden a desintegrar un poco más rápido los comprimidos que la solución buffer de fosfatos, este hecho es importante porque una desintegración rápida puede incrementar la velocidad de disolución.

También se obtuvo el espectro de absorción del clorhidrato de propafenona en los diferentes medios, en la figura 12 se presenta el comportamiento espectrofotométrico en un rango de longitudes de onda de 200 a 350nm y en la tabla 6 se presentan los máximos de absorción obtenidos en cada medio.

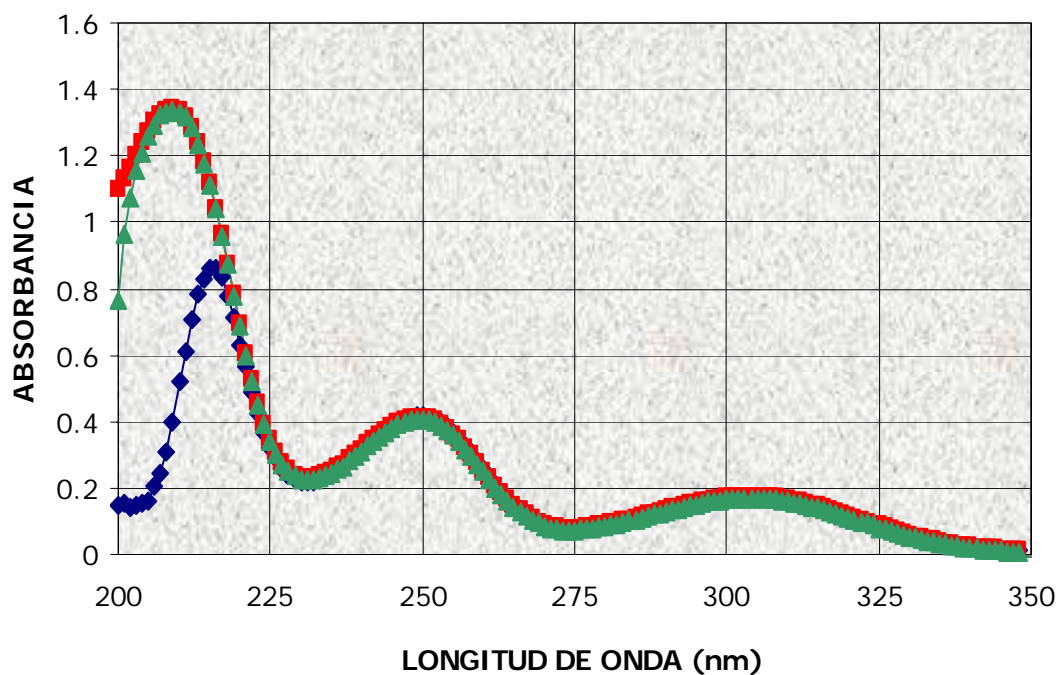


Fig. 12. Comportamiento espectrofotométrico del clorhidrato de propafenona en HCl 0.1N (—▲—), buffer de fosfatos pH 6.8 (—■—) y buffer de acetatos pH 4.5 (—▲—).

Materia prima	Medio de disolución	$\lambda$ máxima (nm)
<b>CLORHIDRATO DE PROPAFENONA</b>	Ácido clorhídrico 0.1N	209, 250, 304
	Buffer de acetatos pH 4.5	216, 250, 303
	Buffer de fosfatos pH 6.8	209, 250, 303

Tabla 6. Máximos de absorción del clorhidrato de propafenona en diferentes medios de disolución.



En la Fig. 12 se observa que el comportamiento espectrofotométrico de la PPF es muy similar en los tres medios, únicamente en el buffer de acetatos hay una pequeña diferencia en la longitud de onda a la cual se presenta el primer máximo de absorción, además de que la absorbancia en este máximo es menor con respecto a la del HCl 0.1N y el buffer de fosfatos.

Considerando que los resultados obtenidos muestran un comportamiento similar, tanto de la forma farmacéutica como del espectro de absorción del clorhidrato de propafenona, utilizando HCl 0.1N, buffer de acetatos pH 4.5 y buffer de fosfatos pH 6.8, se determinó utilizar el primero como medio de disolución durante el desarrollo de este trabajo, esto por cuestiones prácticas y económicas. El volumen que se utilizará será de 900mL para mantener las condiciones de sink.

La temperatura del medio se mantendrá a  $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  a través de un baño de agua con temperatura constante, es importante asegurarse antes de iniciar la prueba de disolución que la temperatura del medio ha llegado al nivel establecido.

### **2.2.3 DURACIÓN DE LA PRUEBA DE DISOLUCIÓN**

Generalmente, la duración de la prueba para productos de liberación inmediata es de 30 a 60 minutos. Se deben tomar muestras cada 10-15 minutos hasta que más del 80% del fármaco esté en solución.



Las condiciones de operación propuestas para la prueba de disolución de tabletas de clorhidrato de propafenona son las siguientes:

- Aparato USP II: Paletas
- Medio de disolución: HCl 0.1N
- Temperatura del medio:  $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
- Velocidad de agitación: 50rpm
- Duración de la prueba: 60 minutos

Cabe mencionar que las condiciones de prueba de disolución deben ser completamente optimizadas cuando se encuentren disponibles datos de biodisponibilidad humana para diversas formulaciones. En estudios de optimización, la composición del medio y/o hidrodinámica (tipo de aparato y velocidad de agitación) se modifican con objeto de determinar sus efectos sobre la velocidad de disolución de los lotes seleccionados de tabletas.

El resultado de los estudios de optimización es importante porque se pueden cambiar las condiciones de prueba de disolución si las nuevas condiciones muestran ser predictivas de la biodisponibilidad in vivo, además los datos generados permiten justificar la selección de las condiciones de prueba de disolución propuesta.





## 2.3. DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO

### 2.3.1 CONDICIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS

Con el propósito de establecer las condiciones espectrofotométricas adecuadas para el desarrollo del método analítico, se obtuvo el espectro de absorción del clorhidrato de propafenona en HCl 0.1N, en un rango de longitudes de onda de 200 a 350nm.

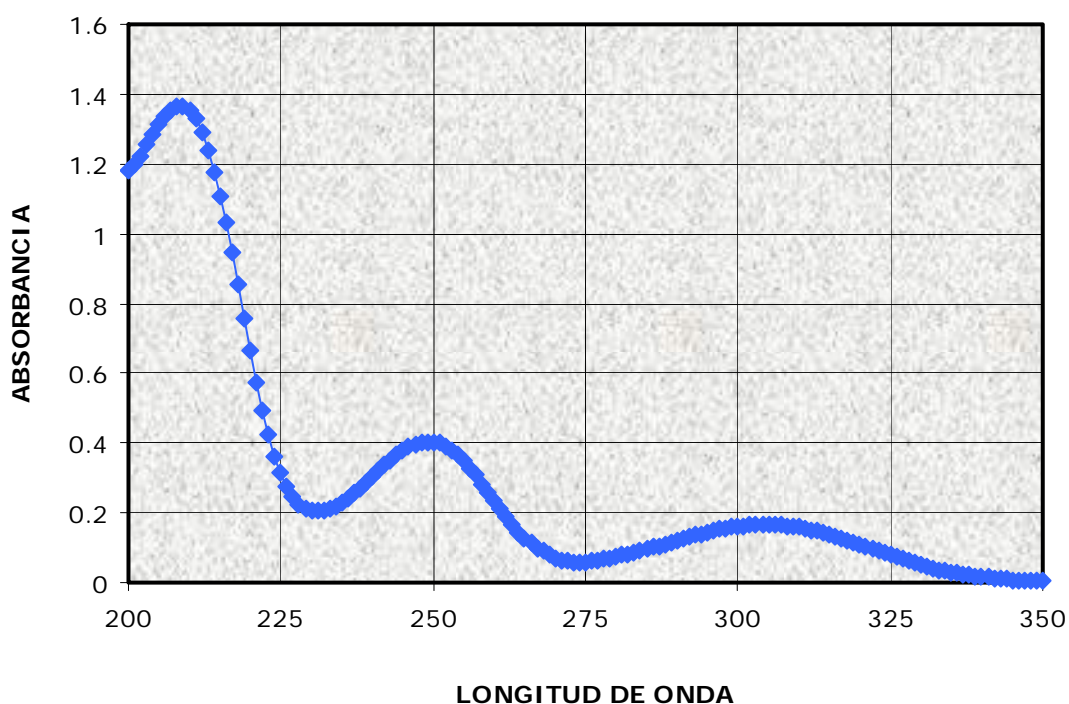


Fig. 13 Espectro de absorción UV obtenido de una solución de clorhidrato de propafenona (20 $\mu$ g/mL) en HCl 0.1N en un rango espectral de 200 a 350nm.



En la Fig. 13 se observan tres picos en el espectro de absorción del clorhidrato de propafenona en HCl 0.1N; las longitudes de onda son 209, 250 y 304nm. La longitud de onda seleccionada para el desarrollo del método analítico fue 250nm.

### 2.3.2 INTERFERENCIA

Con el propósito de determinar si existe interferencia de los excipientes en el comportamiento espectral del clorhidrato de propafenona, se realizó un barrido de una muestra placebo, de un placebo cargado y de una muestra en HCl 0.1N.

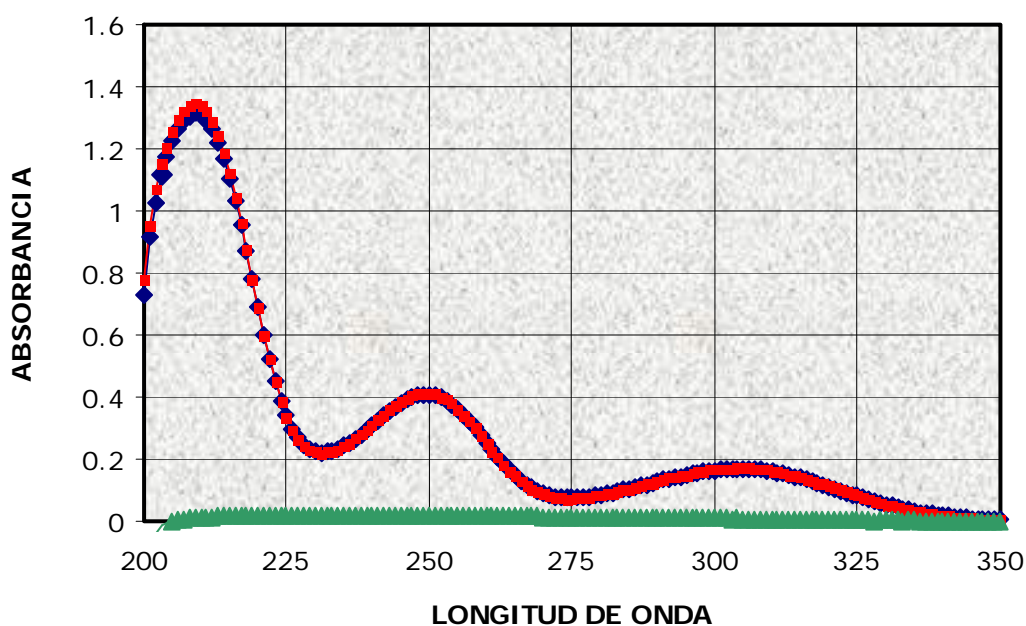


Fig. 14. Comparación de los espectros de absorción de clorhidrato de propafenona en HCl 0.1N ( —◆— ), placebo cargado en HCl 0.1N ( —■— ) y placebo en HCl 0.1N ( —▲— ).



En la Fig. 14 se observa que el barrido de la muestra placebo presenta lecturas ligeramente por arriba del cero, además no se observa diferencia entre los espectros de absorción del clorhidrato de propafenona, tanto en HCl 0.1N como en solución placebo, por lo cual podemos decir que los excipientes utilizados en la formulación no afectan la respuesta analítica de clorhidrato de propafenona, estos resultados evidencian la especificidad del método por lo que se procedió a realizar la validación del mismo.

### 2.3.3 CONCENTRACIONES PARA LA CUANTIFICACIÓN

Para la validación del un método analítico con fines de ser utilizado durante la prueba de disolución, se sugiere un intervalo de concentraciones entre 20 y 120% de la concentración teórica para el estudio de linealidad, en la tabla 7 se presentan las concentraciones utilizadas para el método analítico.

NÚMERO DE SISTEMA	CONCENTRACIÓN (µg/mL)	% EQUIVALENTE
1	33.36	20
2	66.72	40
3	100.08	60
4	133.44	80
5	166.80	100
6	200.16	120

Tabla 7. Intervalo de concentraciones para el método analítico.



### 2.3.4 ENSAYO ANALÍTICO

Una vez establecidas las condiciones de operación para la prueba de disolución de tabletas de clorhidrato de propafenona, se estableció un ensayo analítico sencillo, rápido.

- Tomar con una pipeta volumétrica 5mL de la muestra de disolución.
- Filtrar por gravedad la muestra analítica utilizando papel Whatman #41.
- Recibir el filtrado en tubos de ensaye.
- Leer en un espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 250nm, ajustando a cero con HCl 0.1N.

### 2.3.5 LECTURA Y ESTIMACIÓN

- Las lecturas tanto de estándar como de muestras se leerán en el espectrofotómetro a 250nm ajustando a cero con HCl 0.1N.
- Las concentraciones de las muestras se estimarán a partir de las absorbancias obtenidas de las soluciones que se leyeron, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Conc\_muestra} = \left[ \frac{\text{Respuesta analítica de la muestra}}{\text{Respuesta analítica del estándar}} \right] \times \text{Conc\_estándar}$$

# 3

## **VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**





### 3.0 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

La validación del método analítico se llevó a cabo de acuerdo a lo establecido en la Guía de Validación del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C., edición 2002 así como en la NOM-177-SSA1-1998. Los parámetros de desempeño evaluados para el sistema fueron la linealidad y la precisión; los parámetros evaluados para el método fueron linealidad, precisión y exactitud, reproducibilidad y repetibilidad, límite de detección, límite de cuantificación, sensibilidad y estabilidad de la muestra procesada.

#### 3.0.1 VALIDACIÓN DEL SISTEMA

##### 3.0.1.1 LINEALIDAD

La linealidad del sistema se evaluó mediante la preparación de una curva de calibración de clorhidrato de propafenona de 6 concentraciones diferentes en un rango de 33.36 – 200.16µg/mL, por triplicado, a partir de una solución stock preparada en HCl 0.1N. La tabla 8 muestra la concentración adicionada y la respuesta analítica obtenida.



Número del sistema	Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Respuesta Analítica
1	33.36	0.1312 0.1314 0.1324
2	66.72	0.2621 0.2612 0.2636
3	100.08	0.3945 0.3936 0.3913
4	133.44	0.5205 0.5216 0.5241
5	166.80	0.6521 0.6580 0.6544
6	200.16	0.7865 0.7821 0.7847

Tabla 8. Concentración adicionada y respuesta analítica (absorbancia) obtenida para evaluar la linealidad del sistema.

Para evidenciar la linealidad del sistema en la Fig. 15 se muestra que el cambio de la respuesta analítica del clorhidrato de propafenona es directamente proporcional a la concentración, así mismo en la Tabla 9 se presentan los parámetros estadísticos obtenidos del análisis de regresión y se observa que se encuentran dentro de los límites de aceptación establecidos.

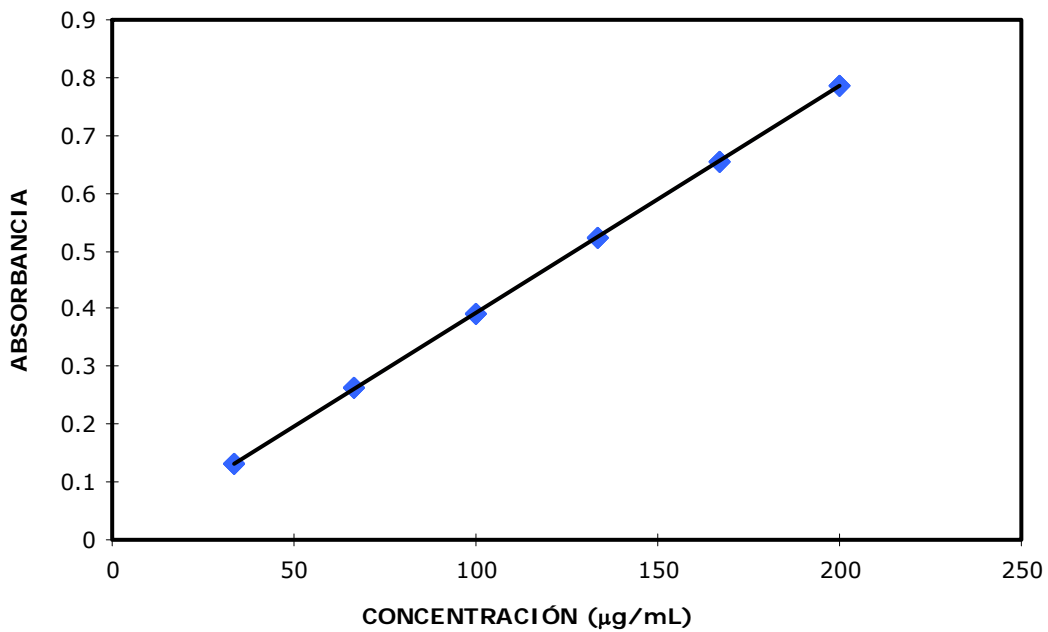


Fig. 15. Gráfico de Absorbancia con respecto a la Concentración de clorhidrato de propafenona para evaluar la linealidad del sistema.

Parámetros estadísticos de la regresión	Valor obtenido
r	0.99997
r <sup>2</sup>	0.99994
Pendiente	0.00391
Intercepto	0.00104
C.V.	0.44903
IC(B <sub>0</sub> )	-0.0010 a 0.0031

Tabla 9. Resultados del análisis de regresión, C.V. e intervalo de confianza (95%) de la ordenada al origen para determinar que el sistema es lineal.





Una prueba adicional realizada para corroborar que el sistema es lineal fue un análisis de variancia para el cual se estableció la siguiente hipótesis:

**Hipótesis:**

- ☀ Ho: No existe una relación lineal entre la concentración y la respuesta analítica
- ☀ Ha: Existe una relación lineal entre la concentración y la respuesta analítica

**Criterio de aceptación:**

- ☀ Si  $F_{cal} < F_{crítica}$  no se rechaza Ho
- ☀ Si  $F_{cal} > F_{crítica}$  se rechaza Ho

Fuente de variación	gl	SC	CM	F calculada	F crítica
Regresión	1	0.8952	0.8952	278996.369	4.49
Residuos	16	5.1339E-05	3.2087E-06		
Total	17	0.8953			

Tabla 10. Análisis de variancia realizado para determinar la relación lineal entre la concentración de PPF y la respuesta analítica.



De acuerdo a la hipótesis establecida y a los resultados obtenidos del análisis de variancia ( $F_{\text{cal}} > F_{\text{crítica}}$ ) se evidenció estadísticamente la relación lineal que existe entre la respuesta analítica y la concentración de PPF.

### 3.0.1.2 PRECISIÓN

Para evaluar la precisión del sistema se analizó la concentración del 100% de una solución estándar, el ensayo se realizó por sextuplicado, los resultados se muestran en la Tabla 11.

Concentración	Respuesta analítica (Absorbancia)
166.80	0.6630
	0.6578
	0.6480
	0.6531
	0.6569
	0.6484
<b>C.V.</b>	<b>0.8917</b>

Tabla 11. Respuesta analítica obtenida para evaluar la precisión del sistema.



En la Tabla 11 se puede observar que el valor del coeficiente de variación obtenido entra dentro del criterio de aceptación establecido (C.V.  $\leq 2\%$ ), por lo que se afirma que la dispersión de los datos es mínima y por lo tanto el sistema se considera preciso.

### **3.0.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO**

#### **3.0.2.1 LINEALIDAD**

La linealidad del método se evaluó mediante la estimación de la concentración de 6 placebos cargados, en un rango de concentraciones de 33.36 – 200.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$  en HCl 0.1N. Cada muestra se preparó por triplicado, a partir de una solución stock. En la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos.



NÚMERO DE SISTEMA	CONC_ADD (µg/mL)	CONC_EST (µg/mL)	% ADD	% EST
1	33.36	33.085	20	19.835
		33.442		20.049
		33.238		19.927
2	66.72	66.374	40	39.792
		66.858		40.082
		66.781		40.037
3	100.08	100.528	60	60.269
		100.095		60.009
		100.230		60.086
4	133.44	132.722	80	79.569
		133.180		79.844
		133.002		79.737
5	166.80	166.698	100	99.939
		166.112		99.588
		167.513		100.428
6	200.16	200.292	120	120.079
		199.783		119.774
		199.809		119.789

Tabla 12. Concentraciones adicionadas y concentraciones estimadas de PPF, para evaluar la linealidad del método.

Para evidenciar la linealidad del método en la Fig. 16 se muestra la relación lineal que existe entre la concentración



adicionada y la concentración estimada de PPF, así mismo en la Tabla 13 se presentan los resultados obtenidos del análisis de regresión y se observa que el 99.9% de la variación de la concentración estimada está explicada por los cambios en la concentración adicionada.

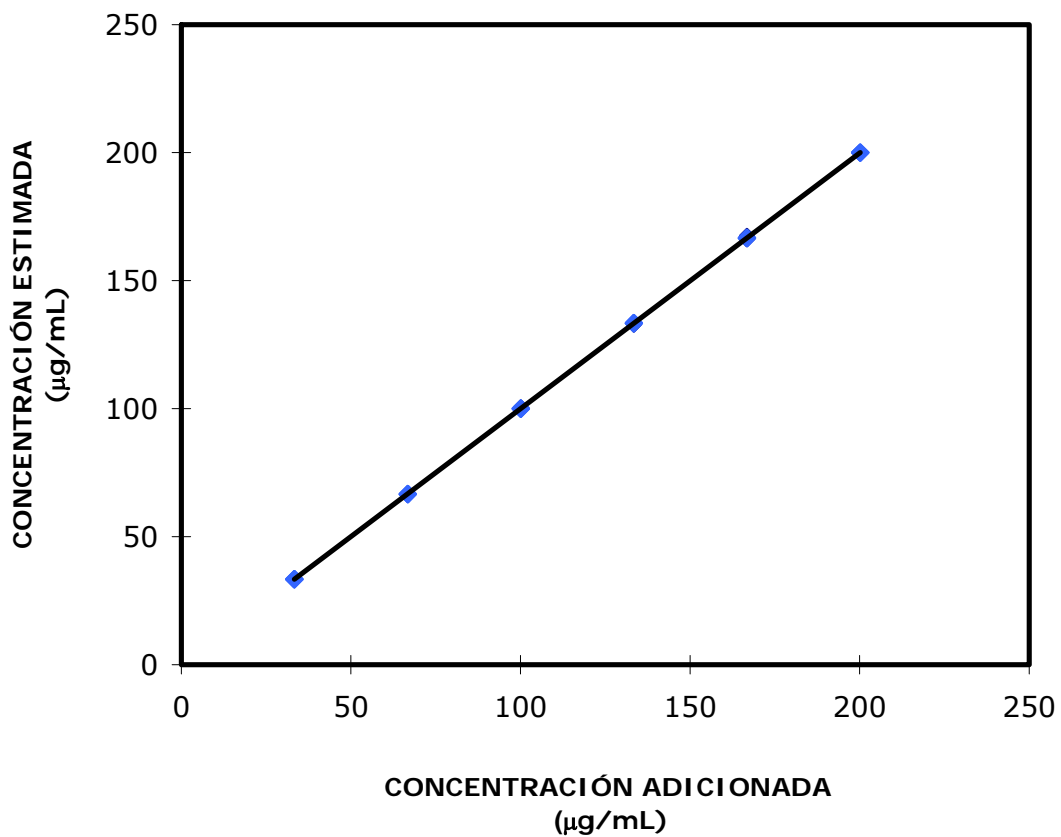


Fig. 16. Gráfico de concentración adicionada contra concentración estimada de clorhidrato de propafenona para evaluar la linealidad del método.



Parámetros estadísticos de la regresión	Valor obtenido
r	0.99998
r <sup>2</sup>	0.99996
r <sup>2</sup> ajustado	0.99995
Pendiente (m)	0.99908
Intercepto (b)	-0.00113
C.V.	0.34874
IC (m)	0.9958 – 1.0024
IC(b)	-0.4286 – 0.4264
IC(μ )	99.7174 – 100.6396

Tabla 13. Resultados del análisis de regresión, C.V. e intervalos de confianza (95%) para determinar que el método es lineal.

También se estableció una hipótesis para determinar, mediante un análisis de variancia, si existe una relación lineal entre la concentración estimada y la concentración adicionada. Los resultados se muestran a continuación:

#### Hipótesis:

- ✱ Ho: No existe una relación lineal entre la concentración adicionada y la concentración estimada del analito
- ✱ Ha: Existe una relación lineal entre la concentración adicionada y la concentración estimada del analito

**Criterio de aceptación:**

- ✱ Si  $F_{cal} < F_{crítica}$  no se rechaza  $H_0$
- ✱ Si  $F_{cal} > F_{crítica}$  se rechaza  $H_0$

Fuente de variación	gl	SC	CM	F calculada	F crítica
Regresión	1	0.8952	0.8952	278996.369	4.49
Residuos	16	5.1339E-05	3.2087E-06		
Total	17	0.8953			

Tabla 14. Análisis de variancia para evaluar la linealidad del método considerando un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$ .

Con los resultados obtenidos en el análisis de variancia, en donde el valor de la  $F_{cal}$  es mayor a su correspondiente valor de  $F_{crítica}$ , se evidenció estadísticamente que existe una relación lineal entre la concentración estimada y la concentración adicionada de PPF.

**3.0.2.2 PRECISIÓN Y EXACTITUD**

Para evaluar la precisión y exactitud del método se analizaron tres concentraciones diferentes de placebos cargados (133.44, 166.80 y 200.16 $\mu$ g/mL) por sextuplicado, bajo las condiciones



normales de operación, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 15.

Número del sistema	CONC_ADD (µg/mL)	% Recobro
1	133.44	100.250 100.212 99.793 100.784 100.460 100.269
2	166.80	100.109 100.063 100.033 99.728 99.804 99.957
3	200.16	99.913 100.206 100.168 100.218 99.494 99.977

Tabla 15. Porcentajes de recobro obtenidos para evaluar la precisión y exactitud del método.

En la Tabla 16 se presentan los parámetros estadísticos estimados para determinar la precisión del método y se puede observar que los valores del coeficiente de variación obtenidos para





cada nivel de concentración entran dentro del criterio de aceptación establecido ( $C.V. \leq 2\%$ ), por lo que se afirma que la dispersión de los datos es mínima y por lo tanto el método se considera preciso.

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	PROMEDIO (%REC)	DESV EST (%REC)	C.V. (%REC)
133.44	100.295	0.325	0.324
166.80	99.949	0.152	0.152
200.16	99.996	0.277	0.277

Tabla 16. Parámetros determinados para evaluar la precisión del método.

La exactitud del método se evaluó con el C.V. global, que tiene un valor de 0.292%, con los intervalos de confianza de cada nivel de concentración, así como el intervalo global, en la Tabla 17 se muestran los resultados obtenidos y se observa que en los tres niveles de concentración así como el intervalo de confianza global incluyen el 100%.



Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	INTERVALO DE CONFIANZA DEL % RECOBRO DE PPF	
	LIC	LSC
133.44	99.554	100.636
166.80	99.789	100.109
200.16	99.706	100.286
<b>GLOBAL</b>	99.935	100.225

Tabla 17. Intervalos de confianza para evaluar la exactitud del método.

Así mismo se realizó una prueba de t de Student para la cual se estableció la siguiente hipótesis:

**Hipótesis:**

- ☀  $H_0: \mu_{\% \text{Recobro}} = \mu_{\% \text{Adicionado}}$  no se rechaza  $H_0$  implica que el método es exacto
- ☀  $H_a: \mu_{\% \text{Recobro}} \neq \mu_{\% \text{Adicionado}}$  si se acepta  $H_a$  implica que el método no es exacto

**Criterio de aceptación:**

- ☀ Si  $t_{\text{cal}} < t_{\text{crítica}}$  no se rechaza  $H_0$  y por lo tanto el método es exacto



Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	t calculada	t crítica
133.44	0.906	2.57
166.80	-0.336	
200.16	-0.014	

Tabla 18. Resultados de la prueba de t de Student, evaluada para la exactitud del método considerando un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$ .

En la Tabla 18 se muestra que el valor de  $t_{\text{cal}}$  es menor al valor de  $t_{\text{crítica}}$  en los tres niveles de concentración, por lo tanto  $H_0$  no se rechaza y podemos establecer que el método es exacto.

### 3.0.2.3 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

La repetibilidad y la reproducibilidad se evaluaron por medio de la estimación por triplicado de la concentración de tres diferentes muestras de placebos cargados. Las muestras fueron preparadas por dos diferentes analistas en dos diferentes días bajo las condiciones de operación establecidas. En la Tabla 19 se muestran los porcentajes de recobro obtenidos por cada analista en cada uno de los días.



PPF		PORCENTAJE DE RECOBRO		
		CONC_1	CONC_2	CONC_3
Analista 1	Día 1	99.633	100.138	99.557
		99.480	100.336	99.340
		100.073	99.465	100.041
	Día 2	100.884	99.923	100.891
		101.478	100.184	100.533
		101.057	100.153	99.883
Analista 2	Día 1	100.225	99.404	100.194
		99.748	99.389	100.436
		99.480	99.557	99.671
	Día 2	101.171	100.276	100.482
		101.573	100.383	100.419
		99.525	100.184	100.227

Tabla 19. Resultados de los porcentajes de recobro obtenidos para evaluar la repetibilidad y reproducibilidad del método.

Para determinar si existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por los dos analistas en los dos diferentes días, se realizó una Análisis de Variancia Anidado, en el cual se estableció como factor fijo el analista y como factor aleatorio el día.



Fuente de variación	gl	SC	CM	F calculada	F crítica (a =0.05)	Valor de P
Analista	1	0.0192	0.0192	0.01	18.51	0.9371
Día (Analista)	2	4.8418	2.4209	10.46	3.29	0.0003
Error	32	7.4047	0.2314			
Total	35					

Tabla 20. Análisis de variancia para evaluar la reproducibilidad y la repetibilidad del método considerando un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$ .

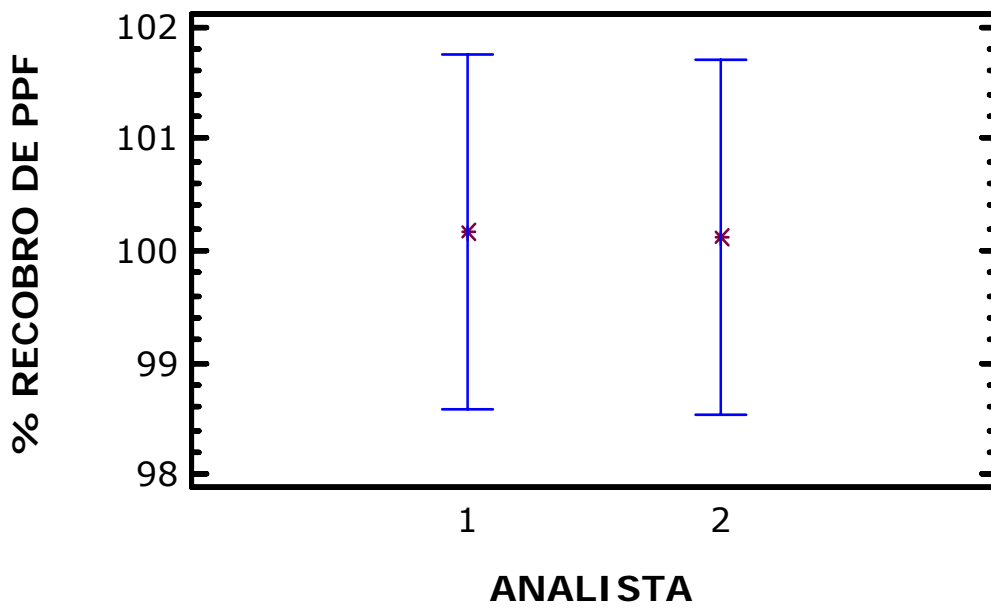


Fig. 17. Gráfico comparativo de la variabilidad del porcentaje de recobro de clorhidrato de propafenona entre analistas.

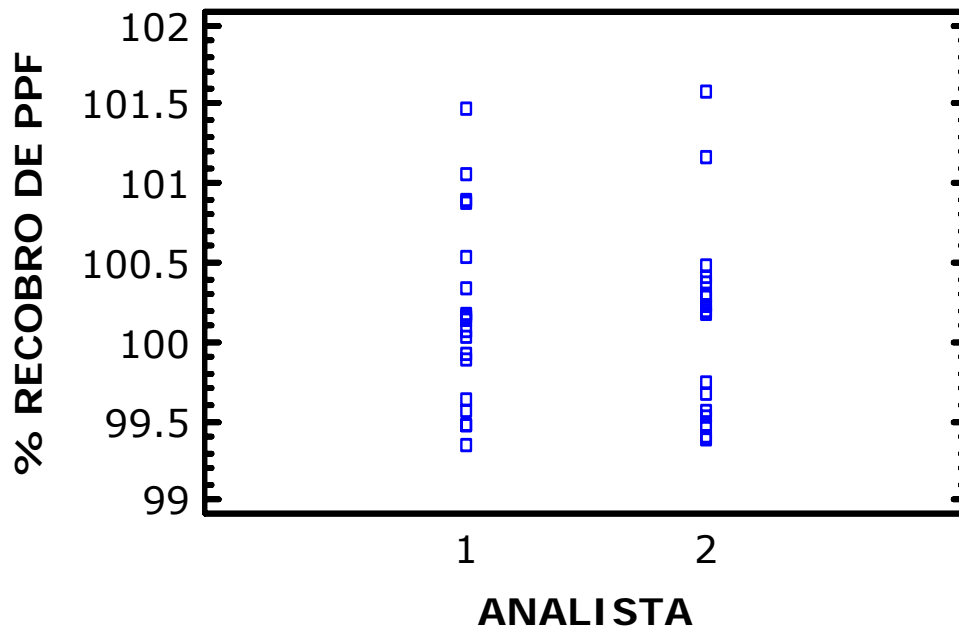


Fig. 18. Gráfico que muestra la variancia entre los porcentajes de recobro obtenidos por cada analista.

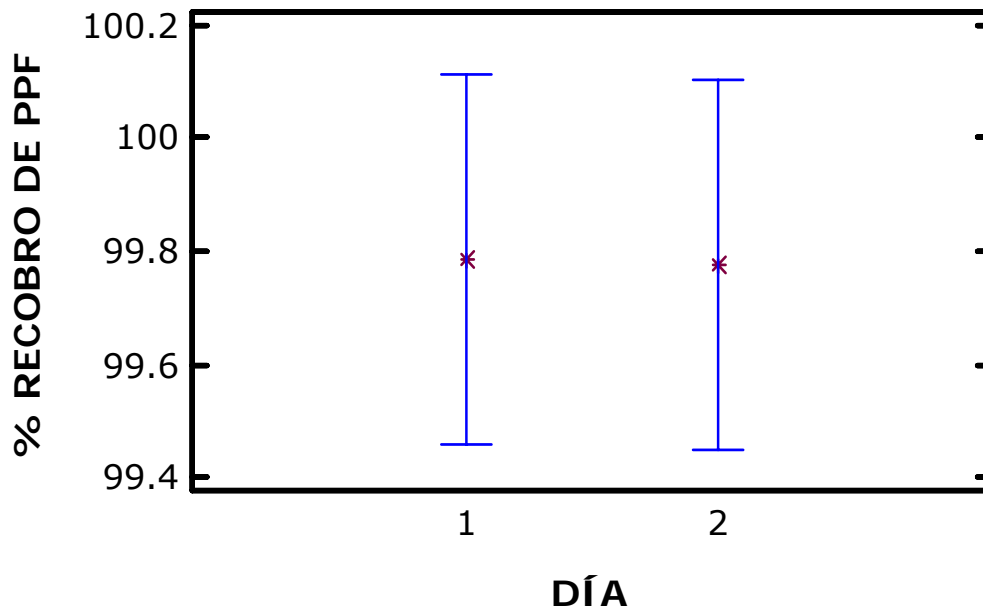


Fig. 19. Gráfico comparativo de la variabilidad del porcentaje de recobro de clorhidrato de propafenona entre días.

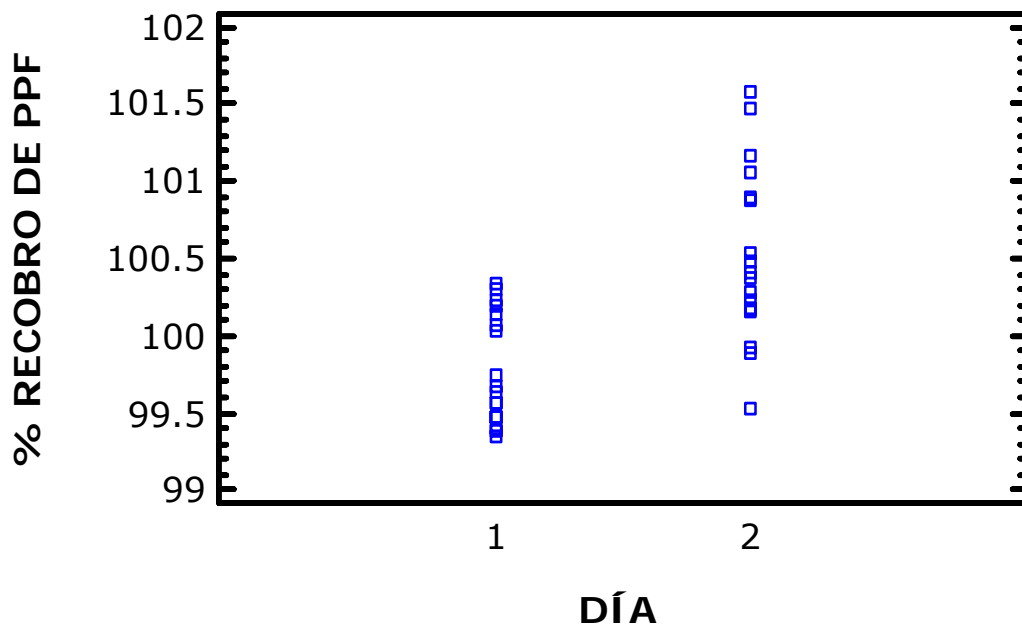


Fig. 20. Gráfico que muestra la variancia entre los porcentajes de recobro obtenidos en cada día.

Los resultados obtenidos del análisis de variancia indican que no hay diferencia significativa entre los porcentajes de recobro obtenidos por diferentes analistas (valor de  $P > 0.05$ ), lo que significa que el método analítico es reproducible; sin embargo, en el caso de la repetibilidad se observa que el valor de  $P$  es menor a 0.05, así mismo se observa en la Fig. 20 que la variancia de los resultados es mayor en el día 2, no obstante la NOM 177 indica que un coeficiente de variación del porcentaje de recobro menor a 3% indica que el método es repetible. En la Tabla 21 se presentan los C.V. obtenidos en cada día.



PPF		PORCENTAJE DE RECOBRO			C.V.	
		CONC 1	CONC 2	CONC 3		
ANALISTA 1	DÍA 1	99.633	100.138	99.557	0.362	0.602
		99.480	100.336	99.340		
		100.073	99.465	100.041		
	DÍA 2	100.884	99.923	100.891	0.553	
		101.478	100.184	100.533		
		101.057	100.153	99.883		
ANALISTA 2	DÍA 1	100.225	99.404	100.194	0.395	0.599
		99.748	99.389	100.436		
		99.480	99.557	99.671		
	DÍA 2	101.171	100.276	100.482	0.588	
		101.573	100.383	100.419		
		99.525	100.184	100.227		

Tabla 21. Coeficientes de variación obtenidos para evaluar la repetibilidad del método.

Como se observa en la tabla 21 los coeficientes de variación obtenidos por cada día son menores a 3%, así mismo se tiene un coeficiente de variación global igual a 0.593%, lo cual indica que el método es repetible entre días.





### 3.0.2.4 LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de detección y el límite de cuantificación fueron estimados de manera teórica, con los datos de regresión obtenidos de la curva de calibración del método, utilizando las siguientes fórmulas:

$$\mathbf{LD} = \frac{3.3 \times S_{x/y}}{b_1} \qquad \mathbf{LC} = \frac{10 \times S_{x/y}}{b_1}$$

donde:

- ✱  $S_{x/y}$  = desviación estándar de la regresión
- ✱  $b_1$  = valor de la pendiente

La concentración teórica obtenida a partir de la fórmula, tanto para límite de cuantificación como para límite de detección se muestra en la Tabla 22. La concentración del límite de cuantificación debe ser cuantificada con precisión y exactitud, sin embargo, al analizarse en una muestra analítica no cumplió con estos criterios, por lo cual se estimó la concentración de un placebo cargado por debajo del intervalo lineal establecido con el fin de demostrar que el método es capaz de cuantificar por debajo de dicho intervalo. En las Tablas 23 y 23a se muestra la concentración utilizada así como los porcentajes de recobro determinados.



LÍMITE	Concentración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
DETECCIÓN	1.419
CUANTIFICACIÓN	4.301

Tabla 22. Valores teóricos del LD y LC estimados con los datos de regresión obtenidos de la curva de calibración del método.

Concentración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	% RECOBRO
4.20	68.974
	73.209
	71.999
	70.789
	69.579
	72.604
<b>C.V</b>	<b>2.384</b>
<b>t calculada</b>	<b>-16.976</b>
<b>t crítica (<math>\alpha=0.05</math>)</b>	<b>2.57</b>

Tabla 23. Valores estimados experimentalmente para límite de cuantificación.



Concentración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	% RECOBRO
8.36	100.128
	99.209
	99.516
	99.516
	100.128
	99.822
<b>C.V</b>	<b>0.372</b>
<b>t calculada</b>	<b>-0.755</b>
<b>t crítica (<math>\alpha=0.05</math>)</b>	<b>2.57</b>

Tabla 23a. Valores estimados experimentalmente para límite de cuantificación.

Como se puede observar en la Tabla 23a el valor de coeficiente de variación es menor al 2%, así mismo el valor de t calculada es menor a su correspondiente valor de t crítica, lo cual indica que la concentración  $8.36\mu\text{g}/\text{mL}$  es cuantificada con aceptable precisión y exactitud.



### 3.0.2.5 SENSITIVIDAD

La sensibilidad se evaluó estimando la concentración de cinco placebos cargados, por triplicado y efectuando la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS). La Tabla 24 muestra las concentraciones adicionadas así como las concentraciones estimadas de PPF.

CONC_ADD ( $\mu\text{g/mL}$ )	CONC_EST ( $\mu\text{g/mL}$ )
163.00	163.833
	163.580
	163.757
165.00	165.760
	164.949
	164.797
167.00	167.662
	167.459
	167.282
169.00	168.955
	169.234
	169.158
171.00	170.933
	170.223
	170.375

Tabla 24. Concentraciones adicionadas y concentraciones estimadas para evaluar la sensibilidad del método.



En la tabla 25 se muestra el análisis de variancia realizado para obtener el valor de DMS y en la Tabla 26 se muestran los valores obtenidos de la diferencias entre cada promedio para ser comparados con su respectiva DMS.

Fuente de variación	gl	SC	CM	DMS
Concentración	4	92.1047	23.0262	0.6398
Error	10	1.6081	0.16081	
Total		14	93.7128	

Tabla 25. Análisis de variancia efectuado para calcular el valor de DMS.

DIFERENCIAS	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5
C_1	0.0000	1.4454	3.7444	5.3926	6.7873
C_2	-1.4454	0.0000	2.2991	3.9473	5.3419
C_3	-3.7444	-2.2991	0.0000	1.6482	3.0429
C_4	-5.3926	-3.9473	-1.6482	0.0000	1.3947
C_5	-6.7873	-5.3419	-3.0429	-1.3947	0.0000

Tabla 26. Diferencias de los promedios obtenidas para evaluar la sensibilidad del método (valor de DMS=0.6398).



De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 26 ninguna de las diferencias entre los promedios obtenidas es menor al valor de DMS por lo tanto se establece que las concentraciones estimadas son significativamente diferentes entre sí y con este se establece que la sensibilidad del método para cuantificar PPF es de  $2\mu\text{g/mL}$ .

### **3.0.2.6 ESTABILIDAD DE LA MUESTRA PROCESADA**

Para determinar la estabilidad de la muestra se estimó la concentración de tres diferentes muestras de placebos cargados con tres ensayos cada uno, a condiciones de almacenaje establecidas. Las muestras fueron fraccionadas y almacenadas protegidas y sin proteger de la luz, a temperatura ambiente para estimar la concentración recuperada a 0, 24 y 48 horas después de su preparación. Los resultados de los porcentajes de recobro de cada condición de almacenamiento se muestran en las Tablas 27 y 28.



CONCENTRACIÓN ( $\mu\text{g/mL}$ )	PORCENTAJES DE RECOBRO		
	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO		
	INICIAL 0 horas	24 horas	48 horas
100.08	100.726	101.386	101.201
	101.647	101.412	100.767
	101.852	101.183	100.895
166.8	101.212	99.726	99.908
	100.292	101.6	100.997
	100.307	100.442	100.844
200.16	101.11	100.053	100.243
	101.264	101.005	101.163
	101.711	101.361	101.713

Tabla 27. Porcentajes de recobro obtenidos para los sistemas que no fueron protegidos de la luz.



CONCENTRACIÓN ( $\mu\text{g/mL}$ )	PORCENTAJES DE RECOBRO		
	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO		
	INICIAL 0 horas	24 horas	48 horas
100.08	100.726	101.285	101.183
	101.647	100.244	100.955
	101.852	98.289	100.168
166.8	101.212	104.552	99.756
	100.292	102.575	100.259
	100.307	102.834	100.061
200.16	101.11	100.942	99.419
	101.264	100.18	100.256
	101.711	100.383	99.99

Tabla 28. Porcentajes de recobro obtenidos para los sistemas que fueron protegidos de la luz.

Para determinar si la luz o el tiempo influyen de manera significativa en la estabilidad de la muestra, se realizó un Análisis de Variancia Multifactorial, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 29, así mismo se presentan los gráficos que muestran la variabilidad entre los porcentajes de recobro obtenidos bajo las condiciones de almacenamiento establecidas.





Fuente de variación	gl	SC	CM	F calculada	Valor de P
Luz	1	0.1221	0.1221	0.14	0.7072
Tiempo	2	3.7723	1.8862	2.20	0.1210
Error	50	42.7958	0.8559		
Total	53	46.6903			

Tabla 29. Análisis de variancia para evaluar la estabilidad de la muestra procesada considerando un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ .

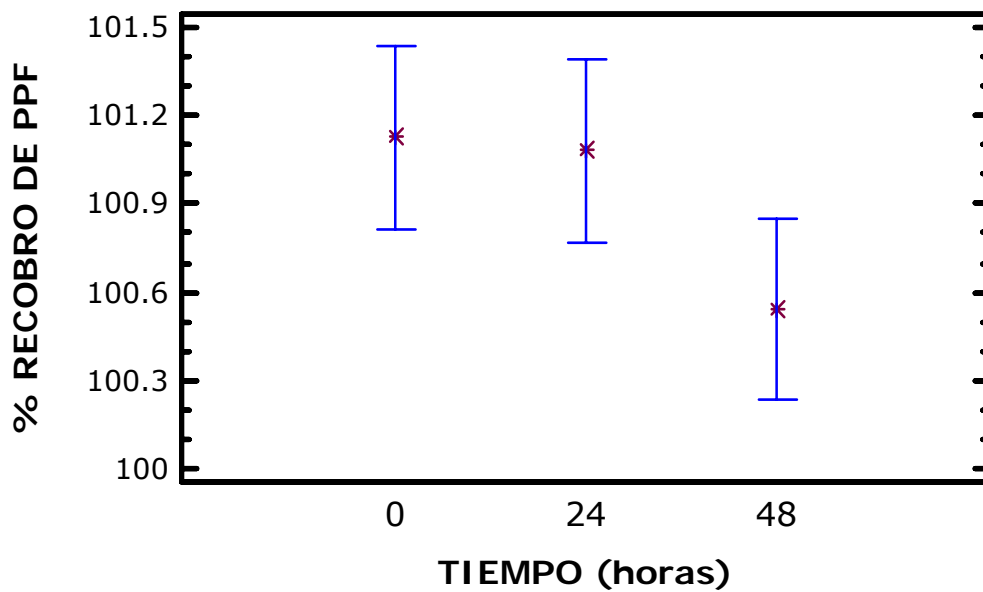


Fig. 21. Gráfico comparativo de la variabilidad del porcentaje de recobro de clorhidrato de propafenona para evaluar la influencia del tiempo sobre la estabilidad de la muestra procesada.

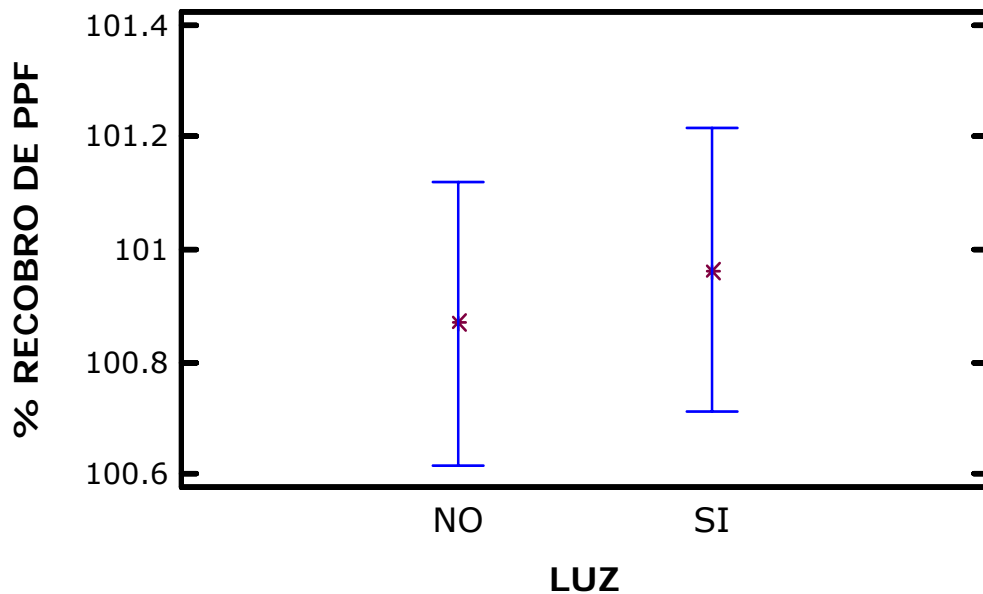
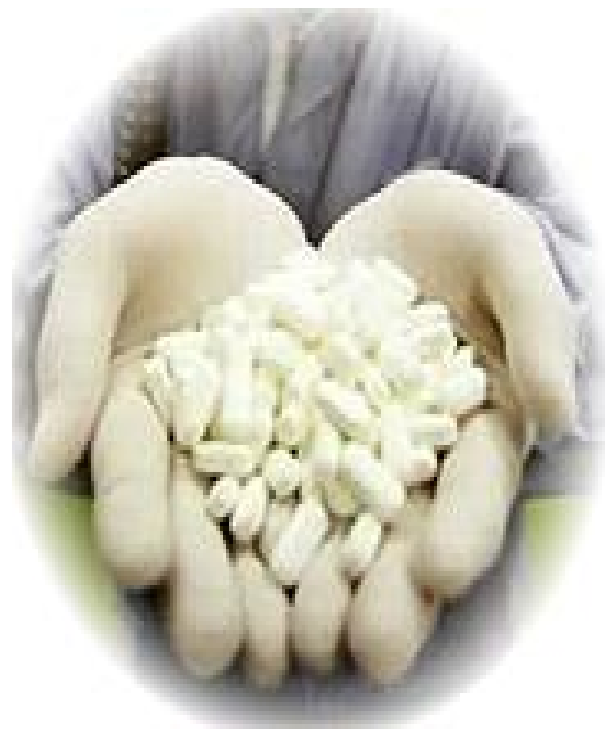


Fig. 22. Gráfico comparativo de la variabilidad del porcentaje de recobro de clorhidrato de propafenona para evaluar la influencia de la luz sobre la estabilidad de la muestra procesada.

Los resultados obtenidos del análisis de variancia indican que la luz y el tiempo son factores que no afectan la estabilidad de la muestra, ya que en ambos casos el valor de P fue mayor a 0.05, por lo tanto se establece que las muestras procesadas pueden ser almacenadas protegidas o no de la luz, a temperatura ambiente durante 48 horas sin sufrir un cambio significativo en la concentración de clorhidrato de propafenona.

4

# CONCLUSIONES





El método analítico desarrollado para evaluar perfiles de disolución de Clorhidrato de Propafenona en tabletas por Espectrofotometría Ultravioleta, después de haber sido validado de acuerdo a lo establecido en la Guía de Validación del CNQFB y en la NOM-177, demostró ser:

- Lineal en un rango de concentraciones de 33.36 - 200.16  $\mu\text{g/mL}$ .
- Preciso con un C.V. menor a 2%.
- Exacto en las concentraciones de 133.44, 166.80 y 200.16  $\mu\text{g/mL}$ , incluidas en el intervalo lineal.
- Repetible entre día y reproducible entre analistas.
- Capaz de cuantificar con precisión y exactitud la concentración de 8.36  $\mu\text{g/mL}$  que se encuentra por debajo del intervalo lineal (límite de cuantificación).
- Capaz de cuantificar clorhidrato de propafenona con una sensibilidad de 2  $\mu\text{g/mL}$ .

Así mismo las muestras analíticas procesadas demostraron ser estables al ser almacenadas por 48 horas, a temperatura ambiente, protegidas o no de la luz.

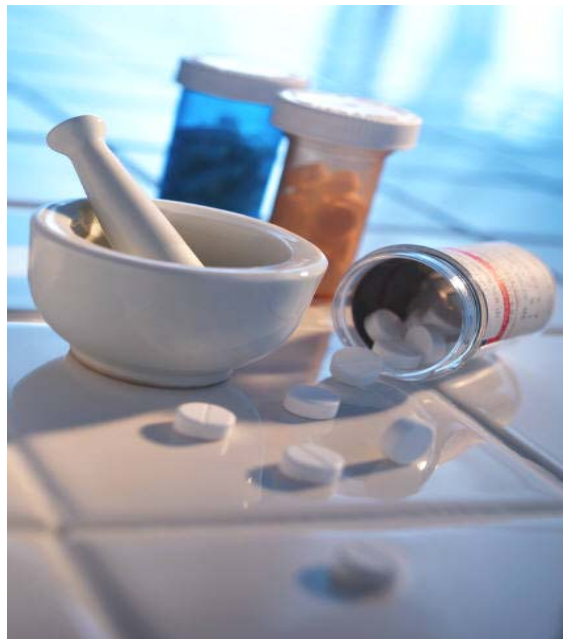
Se obtuvo la evidencia experimental documentada de que el método analítico desarrollado cumple con el propósito para el cual fue diseñado, por lo tanto es una herramienta para cuantificar confiablemente clorhidrato de propafenona liberado durante la prueba de disolución de tabletas.



PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO	CONCLUSIÓN
Linealidad del Sistema	$r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ IC(B <sub>0</sub> ) debe incluir el cero	$r = 0.99997$ $r^2 = 0.99994$ IC(B <sub>0</sub> ): -0.0010 a 0.0031	CONFORME
Precisión del Sistema	C.V. $\leq 2\%$	0.44903%	CONFORME
Linealidad del Método	$r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ IC(B <sub>1</sub> ) debe incluir la unidad IC(B <sub>0</sub> ) debe incluir el cero IC( $\mu$ ) debe incluir el 100% C.V. $\leq 2\%$	$r = 0.99998$ $r^2 = 0.99996$ IC(B <sub>1</sub> ): 0.9958 a 1.0024 IC(B <sub>0</sub> ): -0.4286 a 0.4264 IC( $\mu$ ): 99.717 a 100.640 C.V. = 0.34874	CONFORME
Precisión del Método	C.V. $\leq 2\%$	C.V. CONC_1 = 0.324 C.V. CONC_2 = 0.152 C.V. CONC_3 = 0.277	CONFORME
Exactitud del método	$t_{cal} < t_{crítica} (\alpha=0.05, gl)$ % Recobro = 97-103% C.V. GLOBAL $\leq 2\%$	$t$ calculada = 0.2738 % %Recobro = 99.935 a 100.225 C.V. GLOBAL = 0.292 %	CONFORME
Repetibilidad Reproducibilidad	C.V. <sub>global</sub> $\leq 3\%$ $P > 0.05 (\alpha=0.05)$	C.V. GLOBAL = 0.593 % $P > 0.9371$	CONFORME
Límite de cuantificación	$t_{cal} \leq t_{crítica} (\alpha=0.05, gl)$	$t$ calculada = -0.755	CONFORME
Sensitividad	Se determina la magnitud	DMS < diferencia de los promedios	CONFORME
Estabilidad de la muestra procesada	$P > 0.05 (\alpha=0.05)$	TIEMPO P = 0.1210 LUZ P = 07072	CONFORME

5

# ANEXO





## ÍNDICE DE TABLAS

No.	TÍTULO	Pág.
1	Rangos típicos para las condiciones de operación para la prueba de disolución.	37
2	Aparatos utilizados en la prueba de disolución para productos de liberación oral y productos transdérmicos.	38
3	Características mínimas consideradas para validar un método analítico según su tipo.	52
4	Especificaciones y criterios de aceptación para la validación del método analítico.	59
5	Monografías de la prueba de disolución de principios activos similares a la PPF.	66
6	Máximos de absorción del clorhidrato de propafenona en diferentes medios de disolución.	68
7	Intervalo de concentraciones para el método analítico.	73
8	Concentración adicionada y respuesta analítica (absorbancia) obtenida para evaluar la linealidad del sistema.	77



No.	TÍTULO	Pág.
9	Resultados del análisis de regresión, C.V. e intervalo de confianza (95%) de la pendiente para determinar que el sistema es lineal.	78
10	Análisis de variancia realizado para determinar la relación lineal entre la concentración de PPF y la respuesta analítica.	79
11	Respuesta analítica obtenida para evaluar la precisión del sistema.	80
12	Concentraciones adicionadas y concentraciones estimadas de PPF, para evaluar la linealidad del método.	82
13	Resultados del análisis de regresión, C.V. e intervalos de confianza (95%) para determinar que el método es lineal.	84
14	Análisis de variancia para evaluar la linealidad del método considerando un nivel de significancia de $\alpha=0.05$ .	85
15	Porcentajes de recobro obtenidos para evaluar la precisión y exactitud del método.	86





No.	TÍTULO	Pág.
16	Parámetros determinados para evaluar la precisión del método.	87
17	Intervalos de confianza para evaluar la exactitud del método.	88
18	Resultados de la prueba de t de Student, evaluada para la exactitud del método considerando un nivel de significancia de $\alpha=0.05$ .	89
19	Resultados de los porcentajes de recobro obtenidos para evaluar la repetibilidad y reproducibilidad del método.	90
20	Análisis de variancia para evaluar la reproducibilidad y la repetibilidad del método considerando un nivel de significancia de $\alpha=0.05$ .	91
21	Coeficientes de variación obtenidos para evaluar la repetibilidad del método.	94
22	Valores teóricos del LD y LC estimados con los datos de regresión obtenidos de la curva de calibración del método.	96



No.	TÍTULO	Pág.
23	Valores estimados experimentalmente para límite de cuantificación.	96
23a	Valores estimados experimentalmente para límite de cuantificación.	97
24	Concentraciones adicionadas y concentraciones estimadas para evaluar la sensibilidad del método.	98
25	Análisis de variancia efectuado para calcular el valor de DMS.	99
26	Diferencias de los promedios obtenidas para evaluar la sensibilidad del método.	99
27	Porcentajes de recobro obtenidos para los sistemas que no fueron protegidos de la luz.	101
28	Porcentajes de recobro obtenidos para los sistemas que fueron protegidos de la luz.	102
29	Análisis de variancia para evaluar la estabilidad de la muestra procesada considerando un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ .	103



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Fig.</b>	<b>TÍTULO</b>	<b>Pág.</b>
1	Curva de concentración respecto al tiempo para un fármaco administrado por vía oral.	12
2	Esquema representativo de la Bioequivalencia.	17
3	Diagrama esquemático que ilustra los procesos involucrados en la disolución de preparados sólidos.	23
4	Aparato 1 USP. Canastilla.	26
5	Aparato 2. Método de paletas.	27
6	Aparato 3. Cilindro oscilante.	28
7	Aparato 4. Celda de flujo continuo.	29
8	Aparato 5. Paleta sobre disco.	30
9	Aparato 6. Cilindro.	31
10	Aparato 7. Soporte de oscilación vertical.	32
11	Diferentes soportes de oscilación vertical.	32



No.	TÍTULO	Pág.
12	Comportamiento espectrofotométrico del clorhidrato de propafenona en diferentes medios de disolución.	68
13	Espectro de absorción UV obtenido de una solución de clorhidrato de propafenona (20 $\mu\text{g/mL}$ ) en HCl 0.1N en un rango espectral de 200 a 350nm.	71
14	Comparación de los espectros de absorción de clorhidrato de propafenona.	72
15	Gráfico de Absorbancia con respecto a la Concentración de clorhidrato de propafenona para evaluar la linealidad del sistema.	78
16	Gráfico de concentración adicionada contra concentración estimada de clorhidrato de propafenona para evaluar la linealidad del método.	83
17	Gráfico comparativo de la variabilidad del porcentaje de recobro de clorhidrato de propafenona entre analistas.	91






No.	TÍTULO	Pág.
18	Gráfico que muestra la variancia entre los porcentajes de recobro obtenidos por cada analista.	92
19	Gráfico comparativo de la variabilidad del porcentaje de recobro de clorhidrato de propafenona entre días.	92
20	Gráfico que muestra la variancia entre los porcentajes de recobro obtenidos en cada día.	93
21	Gráfico comparativo de la variabilidad del porcentaje de recobro de clorhidrato de propafenona para evaluar la influencia del tiempo sobre la estabilidad de la muestra procesada.	103
22	Gráfico comparativo de la variabilidad del porcentaje de recobro de clorhidrato de propafenona para evaluar la influencia de la luz sobre la estabilidad de la muestra procesada.	104










### 5.3 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE ACUERDO A LA USP XXVII:

#### **Ácido clorhídrico 0.1 N**






-  Tomar con una pipeta graduada 8.5mL de HCl concentrado.
-  Transferir a un matraz volumétrico de 1L que contenga 500ml de agua desionizada.
-  Llevar a volumen de aforo con agua desionizada.

#### **Buffer de fosfatos pH 6.8**




-  Pesar en un vaso de precipitados 27.22g de fosfato monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).
-  Disolver con agua desionizada y transferir a un matraz volumétrico de 1L.
-  Llevar a volumen con agua desionizada.
-  Tomar con una pipeta volumétrica 50mL de la solución anterior y colocarlos en un matraz volumétrico de 200mL.
-  Adicionar 22.4mL de NaOH 0.2N.
-  Ajustar el pH a 6.8.
-  Llevar a volumen de aforo con agua desionizada.







### **Buffer de acetatos pH 4.5**

-  En un vaso de precipitados pesar 63g de acetato de sodio anhidro.
-  Disolver con agua desionizada y transferir a un matraz volumétrico de 1L.
-  Adicionar con una probeta 90mL de ácido acético glacial.
-  Ajustar el pH a 4.5.
-  Llevar a volumen de aforo con agua desionizada.

### **Hidróxido de sodio 0.2M**

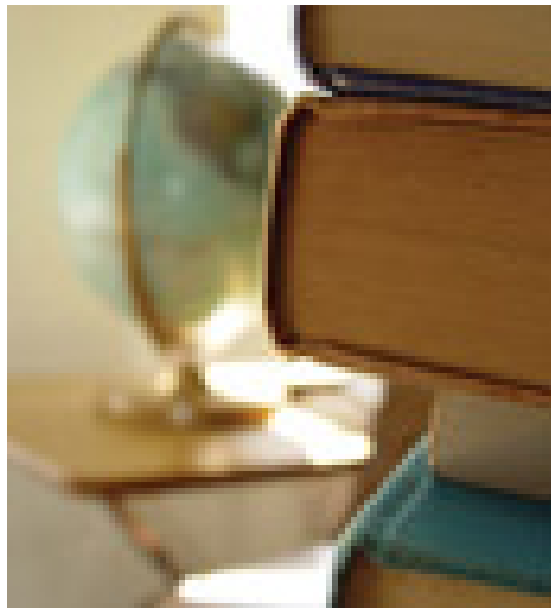
-  Pesar en un vaso de precipitados 8g de hidróxido de sodio.
-  Disolver con agua fría, libre de CO<sub>2</sub> y transferir a un matraz volumétrico de 1L.
-  Llevar a volumen de aforo con agua fría libre de CO<sub>2</sub>

### **Solución Placebo**

-  Pesar la cantidad equivalente de excipientes contenida en una tableta.
-  Colocar en 900mL de HCl 0.1N desgasificado.
-  Realizar disolución de la mezcla de los excipientes en el aparato de paletas a 50rpm, 40°C, durante una hora.
-  Enfriar inmediatamente y filtrar a vacío con papel whatman #41.

6

# REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS







1. Abad Santos, Francisco; Martínez Sancho, Esther; Gálvez Múgica, María Angeles. **Estudios de Bioequivalencia, Genéricos y sustitución de Medicamentos. Estudios de bioequivalencia. Análisis y aspectos metodológicos.** Servicio de Farmacología Clínica. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. p. 68-80.
2. Abdou M., Hamed, PhD. **Dissolution, Bioavailability and bioequivalence.** MACK Publishing Company. Easton Pennsylvania, 1989. 554 pp.
3. Banakar, U. **Pharmaceutical Dissolution Testing. Drugs and the Pharmaceutical Sciences.** Volumen 49. Marcel Dekker, Inc. USA, 1992. 437 pp.
4. Barrera Galicia, Mauricio. Tesis de licenciatura: **Aplicación de métodos de calibración multivariante en la cuantificación simultánea por espectrofotometría U.V., de Acetaminofén (APAP) y Naproxeno (NAP) presentes en un medio de disolución.** UNAM, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2004. 143 pp.
5. Bermejo, Marival. **Estudios de liberación. Correlaciones in vitro - in vivo. Sistema de clasificación biofarmacéutico.** Tecnología Farmacéutica curso 2003-2004. p. 1-53.



6. Cárdenas Rodríguez, Hilda Lilia, et. Al. **Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos.** UAM. Unidad Xochimilco. p. 259.
7. Castillo Aguilar B., González Hernández R. **Protocolo de Validación de Métodos Analíticos para la cuantificación de fármacos.** Revista Cubana de Farmacia. 1997; 30(1). 9 pp.
8. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos; A.C. **Métodos Analíticos. Guía de Validación.** Edición 2002. 123 pp.
9. **Diccionario de Especialidades Farmacéuticas.** Edición 2004. Thomson PLM, S.A. de C.V. p. 2191-2192.
10. Doménech Berrozpe, José, et. Al. **Biofarmacia y Farmacocinética. Biofarmacia.** Volumen II. Editorial Síntesis. Primera reimpresión. España, 2001. p. 19-76.
11. Estévez Carrizo, Francisco E. **Estudios de bioequivalencia, enfoque metodológico y aplicaciones prácticas en la evaluación de medicamentos genéricos.** Revista Médica. Uruguay, 2000. 16:2:133-143.
12. Frías Iniesta, Jesús, et. al. **Limitaciones de los estudios de bioequivalencia: Aspectos Prácticos.** Capítulo 5. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. p. 83.



13. García Montoya, Encarnación. **Tesis doctoral: Optimización, validación y modelización de un proceso de fabricación de comprimidos. Desarrollo de una aplicación interactiva multimedia.** Universidad de Barcelona. Facultad de Farmacia. Junio, 2001. p. 7-16.
14. Gómez Almaraz, Liztli. Tesis de licenciatura: **Elaboración de programas interactivos en multimedia para la enseñanza de la Tecnología Farmacéutica. Desarrollo de un programa en ambiente multimedia para bioequivalencia de medicamentos.** UNAM. Cuautitlán Izcalli, Estado de México. 2001. p. 36-260.
15. Gómez Miron, Margot. Tesis de licenciatura: **Desarrollo de un método espectrofotométrico confiable para cuantificar la cantidad de sulfametazina sódica liberada en el proceso de disolución de bolos de liberación controlada.** UNAM. Cuautitlán Izcalli, Estado de México. 1998. p. 20-26.
16. Goodman and Gilman. **Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.** Novena edición. Interamericana. México, 1996. p. 1980.
17. **Guidance for Industry. BA and BE Studies for Orally Administered Drug Products-General Considerations. Draft Guidance.** Food and Drug Administration. August, 1999.



18. **Guidance for Industry. Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms.** U.S. Department of Health and Human Services. FDA. CDER. August, 1997. pp. 11.
19. **Guidance for Industry. Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation and Application of In Vitro/In Vivo Correlations.** Food and Drug Administration. September, 1997.
20. Hanson W. **Handbook of Dissolution Testing.** Segunda edición. Aster Publishing Corporation. USA, 1991. 159 pp.
21. Harmonised Tripartite Guideline. **"Guideline of Industry: Text on Validation of Analytical Procedures"**. ICH-Q2A, 1995. p. A1-A3.
22. Harmonised Tripartite Guideline. **Validation of Analytical Procedures: Methodology.** ICH Q2B, 1996. p. 1-10.
23. Islas Hernández, J. Alejandro. Tesis de licenciatura: **Desarrollo de un método espectrofotométrico U.V. para la obtención del perfil de disolución de una forma farmacéutica que contenga Trimetoprim y Sulfametoxazol.** UNAM, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2004. 106 pp.



24. J.W., Skoug, et. al. **Estrategia para el desarrollo y validación de pruebas de disolución para formas sólidas orales.** Pharmaceutical Technology. Diciembre, 1996. p. 8-15.
25. Norma Oficial Mexicana. NOM-177-SSA1-1998. **Pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.** Diario Oficial de la Federación. 49 pp.
26. Parrot L., Eugene, Ph. D. **Pharmaceutical Technology. Fundamental Pharmaceutics.** Burgess Publishing Company. United States of America, 1971. p. 84-86, 160-161.
27. Ramis R. G. **Quimiometría.** Editorial Síntesis S.A. España, 2001. p. 200-230.
28. Remington Gennaro, Alonso. **Farmacia.** 20<sup>a</sup> edición. Tomo 2. Editorial Medica Panamericana S.A. Buenos Aires, Argentina, 2003. p. 765-775, 1521.
29. Rojo Garduño, Jehova Héctor. Tesis de licenciatura: **Desarrollo y Validación de Procesos Farmacéuticos: Validación prospectiva del proceso de fabricación de bolos de liberación prolongada de sulfametazina sódica.** UNAM, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2004. p. 15-19.



30. Romero Gamero, Miguel Ángel. **Desarrollo de nuevas metodologías analíticas en el control de calidad de la industria farmacéutica.** Universidad Autónoma de Barcelona. Diciembre, 2001. p. 9-11.
31. Tenorio L., Fermín A. **Validación de un método analítico de tipo espectrofotométrico para la cuantificación de tensoactivos no iónicos en geles anticonceptivos.** Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Octubre – Diciembre 2003. 34(4): 32-40.
32. **The Merck Index.** By Merck & Co. Published originally as The Merck Index. Thirteenth Edition. 2001.
33. **The United Status Pharmacopeia.** XXVII (2004). Ed. State Pharmacopeial convention INC., U.S.A. p. 1563-1564.
34. Vila Jato, José Luis (editor). **Tecnología Farmacéutica. Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas.** Editorial Síntesis. Primera reimpresión. España, 2001. Volumen 1. p. 30-40, 143-205.
35. Voigt, R. **Tratado de Tecnología Farmacéutica.** Editorial Acribia. Zaragoza España, 1982. Tercera edición. p. 27-73, 143-205.



## DIRECCIONES ELECTRÓNICAS

1. [www.dissolution.com](http://www.dissolution.com)
2. [www.dissolutiontech.com](http://www.dissolutiontech.com)
3. [www.fda.gov/cder/guidance/index.htm](http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm)
4. [www.ich.org/pdf/ICH/Q2A.pdf](http://www.ich.org/pdf/ICH/Q2A.pdf)
5. [www.iupac.org/publications/analytical\\_compendium](http://www.iupac.org/publications/analytical_compendium)
6. [www.micromedex.com/fraMain.asp](http://www.micromedex.com/fraMain.asp)
7. [www.paho.org](http://www.paho.org)