# ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE ANÁLISIS DE PERFILES DE DISOLUCIÓN PARA LA EVALUACIÓN DE LOS MODELOS CINÉTICOS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS EN FORMAS FARMACÉUTICAS SÓLIDAS UTILIZANDO CARBAMAZEPINA COMO PRINCIPIO ACTIVO MODELO

**MARIA JIMENA TASCON TASCON**

**UNIVERSIDAD ICESI**
**FALCUTAD DE CIENCIAS NATURALES,**
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS**
**PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA**
**SANTIAGO DE CALI, VALLE**
**2016**

# ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE ANÁLISIS DE PERFILES DE DISOLUCIÓN PARA LA EVALUACIÓN DE LOS MODELOS CINÉTICOS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS EN FORMAS FARMACÉUTICAS SÓLIDAS UTILIZANDO CARBAMAZEPINA COMO PRINCIPIO ACTIVO MODELO

MARIA JIMENA TASCON TASCON

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE PREGRADO EN QUÍMICA FARMACÉUTICA

Giovanni Rojas Jiménez
Cristhian Yarce Castellanos
Claudia Patricia Marín Espinosa
SANTIAGO DE CALI, VALLE
2016

**APROBADO POR:**

**Constain Salamanca**
**Evaluador del Proyecto**

**Giovanni Rojas**
**Director del Proyecto**

**Claudia Patricia Marín**
**Directora del Proyecto**

**Cristhian Yarce**
**Director del Proyecto**

## AGRADECIMIENTOS

Gracias:

A Dios, por permitirme llegar hasta aquí y culminar mi trabajo.

A mi familia, por su apoyo incondicional durante todo mi proceso de formación y a mis amigos por la compañía que representaron durante estos 5 años lejos de mi hogar.

A la Universidad Icesi, por formarme como persona y profesional.

A mis directores de proyecto de grado, el Doctor Giovanni Rojas y la Doctora Claudia Patricia Marín por orientarme, brindarme sus conocimientos y tenerme paciencia.

A Cristian Yarce, que su ayuda fue fundamental en el desarrollo del proyecto.

Al Doctor Constain Salamanca por darme la oportunidad de adquirir los conocimientos necesarios para llevar a cabo los estudios cinéticos de liberación de fármacos.

## CONTENIDO


**AGRADECIMIENTOS** ..... **4**

**LISTA DE TABLAS** ..... **6**

**LISTA DE GRÁFICAS** ..... **7**

**LISTA DE FIGURAS** ..... **8**

**LISTA DE ANEXOS** ..... **9**

**RESUMEN** ..... **10**

**ABSTRACT** ..... **11**

**1. INTRODUCCIÓN** ..... **12**

**2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO** ..... **14**

**2.1. Planteamiento de la pregunta de investigación y justificación** ..... **14**

**2.2. Marco teórico y estado del arte** ..... **15**

2.2.1. Generalidades ..... 15

2.2.2. Generalidades de la Carbamazepina ..... 19

2.2.3. Modelos cinéticos de liberación de fármacos ..... 19

2.2.4. Sistemas matriciales ..... 22

**2.3. Objetivos** ..... **25**

2.3.1. Objetivo General ..... 25

2.3.2. Objetivos específicos ..... 25

**2.4. Metodología** ..... **26**

2.4.1. Perfiles de disolución ..... 26

2.4.2. Método de cuantificación de Carbamazepina en diferentes medios de disolución. ..... 28

2.4.3. Verificación del método de cuantificación de Carbamazepina por medio del lector de platos para ensayos de disolución. ..... 29

2.4.4. Herramienta de cálculo y procedimiento operativo estándar respectivo. ..... 29

2.4.5. Tratamiento de los datos ..... 29

**2.5. Resultados** ..... **30**

2.5.1. Verificación del método de análisis ..... 30

2.5.2. Perfiles de disolución ..... 37

**2.6. Discusión** ..... **41**

2.6.1. Verificación del método de análisis ..... 41

2.6.2. Perfiles de disolución ..... 43

**2.7. Conclusiones** ..... **45**

**2.8. Recomendaciones** ..... **46**

**2.9. Bibliografía** ..... **47**

**Anexo 1**. Protocolo de Verificación ..... 50

**Anexo 2.** Procedimiento operativo estándar para manejo de la plantilla de Excel que contiene los modelos cinéticos de liberación de fármacos. ..... 65

**Anexo 3.** Preparación de medios de disolución. ..... 68

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1**. Especificaciones de Ensayo de Disolución para CBZ en Tabletas de Liberación Prolongada según la USP 39 – NF 34. ..... 26
**Tabla 2**. Condiciones experimentales para los perfiles de disolución de Carbamazepina a distintos pH..... 27
**Tabla 3**. Datos de linealidad de CBZ en medio diluyente. ..... 30
**Tabla 4**. Resultados de la ecuación de la recta. ..... 31
**Tabla 5**. Tabla de datos para el test de Cochran. ..... 32
**Tabla 6**. Datos de linealidad de CBZ en diferentes medios de disolución. ..... 32
**Tabla 7**. Repetibilidad del sistema instrumental. ..... 33
**Tabla 8**. Repetibilidad del método. ..... 33
**Tabla 9**. Precisión intermedia. ..... 34
**Tabla 10**. Resultados del ensayo de Exactitud. ..... 35
**Tabla 11**. Resultados del ensayo de Límite de Detección y cuantificación. ..... 36
**Tabla 12.** Modelos cinéticos de liberación de las referencias de Carbamazepina en Agua. ..... 40
**Tabla 13**. Modelos cinéticos de liberación de las referencias de Carbamazepina en pH 1,2. ..... 40
**Tabla 14.** Modelos cinéticos de liberación de las referencias de Carbamazepina en pH 4,5. ..... 40
**Tabla 15**. Modelos cinéticos de liberación de las referencias de Carbamazepina en pH 7,4. ..... 41
**Tabla 16.** Tabla de Aceptación para Carbamazepina, Tabletas de liberación prolongada según la USP. ..... 43

## LISTA DE GRÁFICAS

**Gráfica 1.** Curva de Linealidad – Carbamazepina en medio diluyente. ..... 31
**Gráfica 2.** Barrido de absorbancia de 230- 300 nm para CBZ en medios de disolución. ..... 35
**Gráfica 3.** Perfil de disolución de Tegretol Retard en Agua ..... 37
**Gráfica 4.** Perfil de disolución de Carbamazepina MK Retard en Agua. ..... 38
**Gráfica 5**. Perfiles de disolución comparativos entre Tegretol y CBZ MK en pH 1,2 ..... 38
**Gráfica 6.** Perfiles de disolución comparativos entre Tegretol y CBZ MK en pH 4,5. ..... 39
**Gráfica 7.** Perfiles de disolución comparativos entre Tegretol y CBZ MK en pH 7,4. ..... 39

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1**. Tipos de liberación de fármacos ..... 15
**Figura 2**. Estructura química de la carbamazepina ..... 19

## LISTA DE ANEXOS

**Anexo 1.** Protocolo de verificación..... 50
**Anexo 2.** Procedimiento operativo estándar para manejo de la plantilla de Excel que contiene los modelos cinéticos de liberación de fármacos..... 65
**Anexo 3.** Preparación de medios de disolución..... 68

## RESUMEN

Debido a que en los últimos años se ha trabajado en la optimización de formas farmacéuticas de liberación modificada para mejorar la eficacia de los medicamentos y facilitar su administración, se ha recurrido al uso de métodos prácticos y económicos para obtener información acerca de las formulaciones de los medicamentos.

Este proyecto se planteó ante la necesidad de desarrollar un procedimiento estandarizado con el que se puedan obtener los modelos cinéticos de liberación de fármacos en formas farmacéuticas sólidas de liberación prolongada. El procedimiento se basó en la elaboración de una plantilla que contiene los modelos matemáticos más utilizados para este tipo de medicamentos. Los datos para probar la funcionalidad de la plantilla se obtuvieron a través de perfiles de disolución de fármacos, utilizando carbamazepina como principio activo modelo .

Se escogieron dos referencias comerciales, correspondientes a Tegretol Retard de 200 mg y Carbamazepina MK Retard de 200 mg. Los perfiles de disolución se realizaron en 4 medios diferentes: agua, pH 1,2, pH 4,5 y pH 7,4. Con el fin de observar el comportamiento de cada una de las referencias en los medios respectivos, comparar sus curvas de liberación y asociarlas a un modelo cinético de liberación de fármacos.

A partir de los resultados obtenidos se concluyó que ambos medicamentos empiezan a liberar el principio activo apenas entran en contacto con el medio ácido, por lo que se asume que no presentan una cubierta entérica y la forma de liberación es prolongada, más no retardada. Además las curvas de liberación de las dos referencias en los tres niveles de pH cumplen el parámetro f2, pero no cumplen el f1, por tanto no son equivalentes.

El Tegretol Retard se ajustó al modelo de Korsmeyer-Peppas, por lo que su mecanismo de liberación es a través del hinchamiento de la matriz polimérica hidrofílica. La Carbamazepina MK Retard, en cambio, presentó un mejor ajuste al modelo de Higuchi. Su mecanismo de liberación se da por medio de difusión a través de una matriz porosa inerte.

Por todo lo anterior, fue posible comprobar la utilidad de la plantilla de modelos cinéticos de liberación de fármacos y su respectivo procedimiento operativo estándar.



Palabras clave: Carbamazepina, modelos cinéticos de liberación de fármacos, sistemas matriciales, mecanismos de liberación de fármacos, perfiles de disolución.

## ABSTRACT

Recently the pharmaceutical sciences have been focused on the optimization of modified release dosage forms to improve the efficacy of the drugs and their administration. Practical and economic methods have been used to obtain information about drug formulations.

This project comes from the need to develop a standardized procedure where kinetic models of drug release could be obtained for solid pharmaceutical forms of modified release. The procedure was based on the elaboration of a Excel template that contains the mathematical models commonly used for this type of drugs. The data were obtained from drug dissolution profiles using Carbamazepine as active pharmaceutical ingredient model.

Two commercial references were chosen, Tegretol Retard of 200 mg and Carbamazepine MK Retard of 200 mg. The dissolution profiles were performed in 4 different dissolution media: water, pH 1.2, pH 4.5 and pH 7.4. That was made with the objetive to observe the behavior of each one of the references in the media, compare their release curves and associate them with a kinetic model of drugs release.

From the results obtained, it was concluded that both drugs begin to release the active pharmaceutical ingredient at the moment that they come into contact with the acidic medium, so it is assumed that they have not an enteric coating and the release form is a prolonged release, instead retarded. In addition, the release curves of the two references in the 3 pH levels comply the parameter f2, but don't comply the f1, in conclusion they are not equivalent.

Tegretol Retard was fitted to the Korsmeyer-Peppas model, then the release mechanism is through the swelling of the hydrophilic polymer matrix. On the other hand, carbamazepine MK Retard presented a better fitting to the Higuchi model, its release mechanism occurs by diffusion through an inert porous matrix.

In summary, it was possible to verify the usefulness of the template of kinetic drug release models and their respective standard operating procedure.



Key words: Carbamazepine, kinetic models of drug release, matrix systems, drug release mechanisms, dissolution profiles.

# 1. INTRODUCCIÓN

Con el fin de certificar la seguridad y eficacia de los medicamentos, en la industria farmacéutica se deben realizar muchos controles de calidad y pruebas específicas de caracterización tanto a materias primas como a productos terminados. En el caso de las formas farmacéuticas sólidas, se deben cumplir ciertas pruebas para asegurar que se lleven a cabo los procesos de liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción del medicamento.

El proceso de liberación del fármaco es el más importante, debido a que el principio activo debe disolverse en el medio para que sea absorbido, de lo contrario, no se conseguirá el efecto farmacológico esperado.

Para lograr que el medicamento se disuelva en el medio fisiológico correspondiente al sitio de absorción, se realizan formulaciones especiales que permiten la liberación del fármaco en un tiempo determinado y bajo condiciones de pH específicas. Estas formulaciones están compuestas por una serie de excipientes que condicionan la solubilidad del fármaco y determinan su mecanismo de liberación desde la forma farmacéutica.

Debido al alto costo que implica investigar en el descubrimiento de nuevas moléculas que tengan un efecto terapéutico, se ha optado por mejorar las formulaciones de principios activos ya existentes y de esta manera modificar la forma en que actúan.

Entre las pruebas de calidad requeridas para formas farmacéuticas sólidas, se encuentra la prueba de disolución, que se utiliza para probar si el medicamento se disuelve en un medio específico a un tiempo determinado. Cuando se realiza un muestreo constante a las mismas condiciones de esta prueba, se puede determinar el perfil de disolución del medicamento, que es un estudio que muestra la concentración de fármaco disuelto respecto al tiempo.

A partir de estos datos es posible realizar comparaciones entre varias referencias de medicamentos que tengan el mismo principio activo para determinar la similitud de las curvas de liberación del fármaco. Además, cuando el medicamento presenta liberación modificada, se asocia a unos modelos matemáticos conocidos como modelos cinéticos de liberación de fármacos, que a su vez definen el mecanismo por medio del cual el fármaco es liberado al cuerpo.

Estos modelos son una alternativa económica y rápida para evaluar la eficacia de los comprimidos; así mismo, contribuye a la optimización de las formas farmacéuticas sólidas mediante información útil que se puede asociar a excipientes que modifican la formulación.

A causa de lo anterior, se vio la necesidad de desarrollar una herramienta para determinar los modelos cinéticos de liberación de fármacos de comprimidos y así contribuir a la investigación de nuevos sistemas matriciales que puedan modificar la forma en que se libera el fármaco en el cuerpo.

Para esto, se creó una plantilla de Excel que agiliza la obtención de estos modelos a partir de datos de concentración respecto al tiempo; además fue probada utilizando los datos obtenidos de perfiles de disolución de dos referencias de tabletas de carbamazepina.

Esta plantilla será utilizada en el Laboratorio de Instrumentación Química (LIQ) de la Universidad Icesi para posteriores ensayos que puedan generarse debido a que presta servicios para investigación y pruebas de control de calidad a laboratorios externos.

# 2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

## 2.1. Planteamiento de la pregunta de investigación y justificación

Actualmente, la industria farmacéutica es una de las más importantes a nivel mundial, por lo que se encuentra gran competencia en cuanto a innovación y desarrollo de medicamentos.

Elucidar los modelos cinéticos de liberación de fármacos se ha convertido en una alternativa práctica para conocer las propiedades de las matrices poliméricas de los fármacos y mejorar las formulaciones a nivel de tecnología farmacéutica.

Los modelos cinéticos pueden ser relacionados con el mecanismo de liberación del principio activo desde una forma farmacéutica sólida, por medio de datos de la concentración del fármaco disuelto en un medio específico y el tiempo de disolución respectivo; estos datos se obtienen a través de perfiles de disolución.

El Laboratorio de Instrumentación Química (LIQ) de la Universidad Icesi, realiza ensayos de investigación y pruebas de control de calidad como un servicio subcontratado de otros laboratorios.

Debido a que se cuenta con los equipos necesarios para obtener los perfiles de disolución de fármacos, se optó por implementar una plantilla de Excel por medio de la cual se puedan obtener los modelos cinéticos de liberación de fármacos de forma clara y sencilla.

De esta manera el LIQ podrá ofrecer un servicio adicional a sus clientes en el momento de realizar los ensayos en formas farmacéuticas sólidas de liberación modificada.

## 2.2. Marco teórico y estado del arte

### *2.2.1. Generalidades*

Los medicamentos tienen como objetivo mejorar la calidad de vida de personas que padecen alguna enfermedad, y están compuestos por uno o más principios activos y varios excipientes que definen la forma farmacéutica, y por tanto la vía de administración del medicamento.

La forma farmacéutica se encuentra condicionada por la estabilidad del principio activo, la permeabilidad a través de membranas y la población a quien va dirigido. Su función es asegurar que el medicamento llegue al sitio de acción y pueda ejercer el efecto farmacológico.

Existen diferentes formas farmacéuticas sólidas, entre ellas se pueden encontrar comprimidos, cápsulas, y otras formas de dosificación que se usan con menos frecuencia; las tabletas presentan gran importancia debido a que son muy estables tanto física como químicamente, proveen exactitud en la dosificación, son fáciles de administrar, permiten controlar la liberación del principio activo y el proceso de manufactura es económico. (Manzano Yescas & Morales Delgado)

Los comprimidos se pueden dividir según el tipo de liberación como se muestra a continuación.

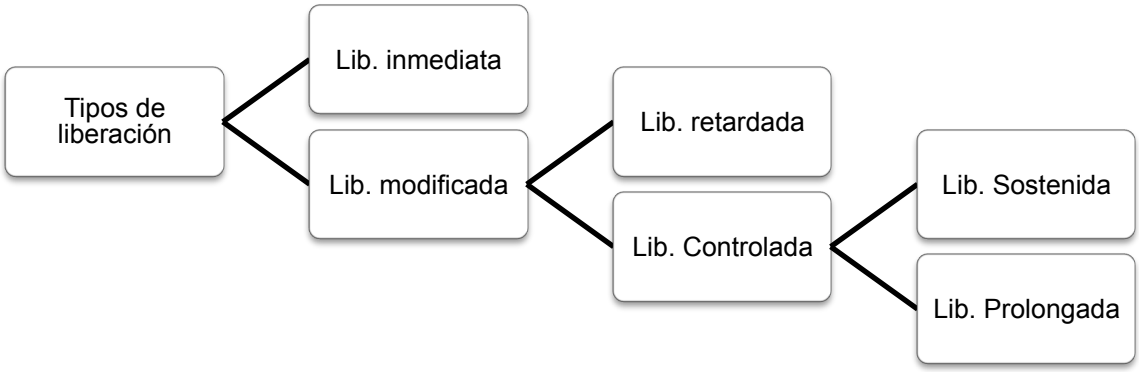



Fig. 1. Tipos de liberación de fármacos

Las formas farmacéuticas de liberación modificada buscan variar la velocidad de liberación del principio activo, ya sea para disminuir la frecuencia de la dosis o para proteger al fármaco de condiciones fisiológicas en las que no es estable, como el pH gástrico. (Diccionario del catalogo sectorial de productos farmacéuticos, 2014) Para que un fármaco sea absorbido por el cuerpo y logre el efecto sistémico esperado, primero debe liberarse de la tableta.

La velocidad y medida en que se absorbe el fármaco en el cuerpo y se hace disponible en el sitio de acción es conocida como biodisponibilidad. Estos estudios aportan información útil respecto a la distribución y eliminación de los fármacos; además también podrían suministrar información acerca de otras propiedades del principio activo, como la permeabilidad a través de membranas y la influencia de las enzimas o los transportadores presistémicos en su absorción. (FDA, U.S. Food and Drugs Administration, 2000)

La biodisponibilidad de las formas farmacéuticas de administración oral, se evaluá mediante el desarrollo de un perfil de exposición sistémica que se obtiene midiendo la concentración de fármaco a lo largo del tiempo en muestras obtenidas de la circulación. (FDA, U.S. Food and Drugs Administration, 2000) Esta medida puede verse afectada por distintos factores, que incluyen la forma en como responde el cuerpo al fármaco y la formulación del medicamento; que esta compuesto por excipientes y procesos que facilitan o retardan la liberación del principio activo. (Factores que influyen en la biodisponibilidad).

Cuando una compañía farmacéutica desarrolla un medicamento, se le otorga una patente, que al vencerse concede la posibilidad a otras empresas de fabricar formas farmacéuticas a base del mismo principio activo para entrar a competir en el mercado.

Sin embargo, al crear un nuevo medicamento se debe probar su seguridad y eficacia antes de permitir su venta y distribución para consumo humano. En estos casos se debe probar que el medicamento genérico (que no tiene la patente), tiene el mismo efecto que el Innovador (que tuvo la patente); esto se conoce como bioequivalencia.

La bioequivalencia es la medida de la biodisponibilidad para dos medicamentos que tienen dosis y componentes de formulación similares; a través de esta se busca la ausencia de diferencias significativas en la velocidad de absorción y cantidad absorbida del fármaco. (FDA, U.S. Food and Drugs Administration, 2000)

En algunos casos es posible realizar exenciones a los estudios de bioequivalencia, como en el caso de formas farmacéuticas de liberación inmediata; La bioexención permite demostrar la bioequivalencia de los medicamentos por medio pruebas de disolución *in vitro*, y como única prueba adicional, requiere un estudio *in vivo* para evaluar la concentración no tóxica más alta que puede haber de medicamento en el cuerpo. (FDA, U.S. Food and Drugs Administration, 2000).

Estas exenciones se encuentran condicionadas de acuerdo a la categoría en la que se encuentre el fármaco según el sistema de clasificación biofarmacéutico; el cual clasifica los principios activos según su permeabilidad intestinal y su solubilidad en medio acuoso. (CENAMID (Centro Nacional de Documentación e Información de Medicamentos), 2006).

- Clase I: Alta solubilidad y alta permeabilidad.

- Clase II: Baja solubilidad y alta permeabilidad.
- Clase III: Alta solubilidad y baja permeabilidad.
- Clase IV: Baja solubilidad y baja permeabilidad.

Los fármacos de Clase I se encuentran exceptuados de realizar estudios de bioequivalencia. Para los principios activos que se encuentran en la Clase II y Clase III, será extendida la bioexención si el producto presenta disolución rápida (85% o más disuelto en 30 minutos o menos). Sin embargo, los fármacos de Clase IV no se encuentran exceptuados de realizar los estudios de bioequivalencia *in-vivo*. (CENAMID (Centro Nacional de Documentación e Información de Medicamentos), 2006).

Los ensayos de disolución pueden tener dos finalidades, comprobar que las tabletas cumplen un tiempo de disolución determinado para control de calidad, y comparar la potencia de dos medicamentos.

La prueba de disolución corresponde al numeral <711> de la Farmacopea americana (USP) (<711>Disolución, 2016), y determina la cantidad de principio activo que se encuentra en solución después de cierto tiempo de agitación de la tableta en un equipo especial, a pH y temperatura fisiológico. Las condiciones específicas para realizar esta prueba se encuentran en la monografía individual de cada principio activo en la farmacopea, la cual indica el tipo de aparato a utilizar, el medio de disolución, y el método de análisis por el que debe ser cuantificado el porcentaje de fármaco disuelto.

Cuando se realizan comparaciones entre dos medicamentos se deben generar perfiles de disolución de cada uno. Estos perfiles indican la cantidad de fármaco que se disuelve a diferentes tiempos, por lo que en esta prueba se debe realizar un muestreo constante y preciso bajo las mismas condiciones estipuladas para en ensayo de disolución. (FDA. U.S. Food and Drug Administration, 1997)

Cuando el método analítico de cuantificación de fármaco disuelto que se va a utilizar no es el mismo que el que está estipulado en la farmacopea se debe realizar una validación para comprobar que los resultados obtenidos serán confiables y precisos.

Para comparar dos perfiles de disolución generalmente se utilizan parámetros amodelisticos como el Factor de Diferencia (f1) y el Factor de Similitud (f2).

Para f2, los valores de aceptación oscilan entre 50 y 100; un valor muy cercano a 100 indica que las dos curvas de disolución son casi iguales. La ecuación 1 representa el parámetro f2.

$$f_2 = 50\ x\ log\left\{\left[1 + \frac{1}{n} x \sum_{t=1}^{n} (R_t - T_t)^2\right]^{-0,5} x\ 100\right\} \qquad (1)$$

Así mismo, f1 es la medida de la diferencia entre las dos curvas en cada tiempo y los valores aceptables oscilan entre 0 y 15. La fórmula para hallar f1, se encuentra presentada en la ecuación 2.

$$f_1 = \left\{\frac{(\sum_1^n |R_t - T_t|)}{\sum_1^n (R_t)}\right\} x100 \qquad (2)$$

También se debe realizar una curva de calibración apropiada para interpolar las concentraciones de fármaco disuelto usando estándares de referencia conocidos y finalmente realizar la gráfica de porcentaje acumulado de fármaco disuelto contra el tiempo. (FDA. U.S. Food and Drug Administration, 1997).

Estos parámetros sirven para comparar la equivalencia de las curvas de liberación en formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata y modificada, pero tienen mayor utilidad cuando las tabletas presentan liberación inmediata debido a que dependiendo de la solubilidad del fármaco pueden establecerse equivalencias farmacéuticas o bioexenciones.

Sin embargo, en el caso de tabletas de liberación modificada, no es tan sencillo realizar bioexenciones, debido a que presentan propiedades que dificultan la comparación de un ensayo *in vitro* con estudios de biodisponibilidad en pacientes.

Por lo que los ensayos de disolución que se efectúan a estas formas farmacéuticas son para controlar la calidad del producto y estudiar el comportamiento de la formulación de un medicamento de prueba respecto al de referencia. Además, también se debe tener en cuenta que hay algunas clases de fármacos a los que se les debe realizar estudios de biodisponibilidad absoluta a través de muestras tomadas de la circulación, entre ellos se encuentran antineoplásicos, anticoagulantes, antiarrítmicos, anticonvulsivantes, entre otros.

Al obtener los datos de perfiles de disolución también se pueden obtener los modelos cinéticos de liberación de fármacos de los medicamentos; estos modelos definen el mecanismo por el cual se libera el principio activo de la forma farmacéutica, lo que podría modificar la velocidad de liberación y la biodisponibilidad del fármaco.

Para realizar todos los estudios de disolución es necesario tener una molécula que sirva como principio activo modelo. Para este caso se escogió la Carbamazepina debido a que se puede adquirir fácilmente, presenta estabilidad en formas farmacéuticas sólidas y ha sido fármaco modelo en varias investigaciones acerca de matrices poliméricas en la universidad, por lo que los datos adquiridos en este estudio podrían servir para comparación de las formulaciones en un futuro.

### *2.2.2. Generalidades de la Carbamazepina*

La carbamazepina (CBZ) es un fármaco antiepiléptico, analgésico y antimaniaco. En la epilepsia funciona como anticonvulsivante, es útil para convulsiones tónico-clónicas generalizadas y en crisis parciales. (Ruiz)

La CBZ y su metabolito activo 10,11-Epóxido de Carbamazepina (E-CBZ) inhiben la entrada de sodio a las neuronas, por lo que pueden bloquear de manera selectiva las descargas de alta frecuencia; su acción no se ve reflejada sobre las neuronas del foco epiléptico, si no sobre las que propagan la descarga, que por lo general son neuronas normales; no afecta las funciones cognitivas ni tiene acción sedante. (Ruiz)

La fórmula química de la carbamazepina es $C_{15}H_{12}N_2O$ y tiene un peso molecular de 236,27 g/mol. (Carbamazepina Tabletas, 2016)

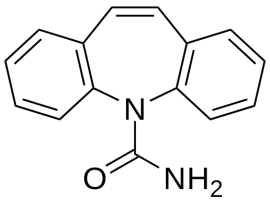



Fig. 2. Estructura química de la carbamazepina

Además presenta poca solubilidad acuosa y suele autoinducir el metabolismo hepático y por tanto incrementa su inactivación por medio de enzimas. (Ruiz)

El uso de CBZ presenta varias complicaciones, entre ellas que la relación dosis/concentraciones plasmáticas varía entre individuos; presenta estrecho margen terapéutico y diversas formas polimórficas que poseen velocidades de disolución diferentes. (Ruiz) Por estas razones se deben realizar estudios de biodisponibilidad absoluta.

### *2.2.3. Modelos cinéticos de liberación de fármacos*

Cada medicamento tiene un mecanismo mediante el cual libera el fármaco al medio fisiológico del sitio de absorción, y está acoplado a una cinética de liberación que varía dependiendo de los componentes de la formulación del medicamento.

El estudio de la cinética de liberación de fármacos permite calcular constantes que brindan información útil relacionada con el mecanismo mediante el cual ocurre el proceso de liberación. Para esto es necesario elegir el modelo matemático adecuado que se ajuste a los datos obtenidos en el perfil de disolución del sistema.

Entre los objetivos de utilizar estos modelos matemáticos está predecir la velocidad de liberación del fármaco y su comportamiento de difusión a través de los polímeros, evitando realizar experimentos adicionales. Una vez descubierto el modelo que se ajusta a los datos, se puede optimizar la cinética de liberación del medicamento; además se puede predecir el efecto de los parámetros de diseño como forma, tamaño y composición en la cantidad de fármaco total que es liberado. Con lo anterior se busca mejorar la eficacia terapéutica y la seguridad de estos medicamentos. (Shaikh, Kshirsagar , & Patil, 2015)

Un mecanismo por el cual se puede llevar a cabo la liberación del fármaco es la difusión, que se da cuando el fármaco atraviesa el polímero que forma el sistema de liberación debido al gradiente de concentración que hay entre la matriz polimérica y el medio de disolución. (Aragón Fernández, González Santos, & Fuentes Estévez, 2009) La transferencia de la molécula del fármaco se puede dar por permeación molecular simple o por movimiento a través de poros y canales. (Shaikh, Kshirsagar , & Patil, 2015).

Los modelos cinéticos de liberación de fármacos más utilizados son de orden cero, primer Orden, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell y Baker-Lonsdale; también se pueden encontrar otros modelos que se utilizan con menos frecuencia.

- Orden cero: En este sistema la liberación del fármaco es independiente de su concentración. Estas formas farmacéuticas no se desagregan y liberan el fármaco muy lentamente. Se representa por la ecuación 3.

$$\boldsymbol{Q_t = Q_0 - K_0 t} \tag{3}$$

Donde $Q_t$ corresponde a la cantidad de droga disuelta en un tiempo (t), $Q_0$ es la cantidad de droga disuelta en el tiempo cero y $k_0$ es la constante de orden cero. (Costa & Sousa Lobo, 2001)

Esta relación puede utilizarse para describir varios tipos de formas de dosificación farmacéutica de liberación modificada, como sistemas transdérmicos y sistemas matriciales que contienen fármacos de baja solubilidad.

- Primer Orden: Las formas farmacéuticas que siguen este perfil de disolución liberan el principio activo de una manera que es proporcional a la cantidad que queda en su interior, por lo tanto, la cantidad de fármaco liberado disminuye a medida que pasa el tiempo. Un ejemplo de este modelo son los medicamentos que contienene API (Por sus siglas en Inglés, Active Pharmaceutical Ingredient) solubles en agua y que se encuentran dentro de matrices porosas. (Costa & Sousa Lobo, 2001)

Se representa por la ecuación 4.

$$\boldsymbol{\log Q_t = \log Q_0 + \frac{K_1 t}{2{,}303}} \tag{4}$$

Donde $Q_t$ corresponde a la cantidad de fármaco liberado en el tiempo (t), $Q_0$ es la cantidad inicial de fármaco en el medio de disolución y $K_t$ es la constante de primer orden. Para este caso en particular, $Q_t$ corresponde a la cantidad de fármaco que queda en el interior de la forma farmacéutica, debido a que presenta una relación proporcional.

- Modelo de Higuchi: Este modelo describe la liberación de fármacos desde sistemas matriciales; es aplicable a diferentes sistemas geométricos y porosos y se basa en las hipotesis de que la concentracion inicial del fármaco en la matriz es mucho mayor que la solubilidad del mismo, las partículas del fármaco son más pequeñas que el espesor del sistema matricial, el hinchamiento y disolución de la matriz es despreciable, y por último la difusión del fármaco es constante. (Shaikh, Kshirsagar , & Patil, 2015)

La ecuación que representa este modelo se muestra a continuación:

$$\boldsymbol{Q_t = K_H t^{1/2}} \tag{5}$$

Donde $Q_t$ es la cantidad de fármaco liberado en un tiempo (t) y $K_H$ es la constante de disolución de Higuchi. (Costa & Sousa Lobo, 2001)

- Modelo de Korsmeyer-Peppas: Este modelo también describe varias formas de dosificación de liberación modicada y se consideran varios procesos simultáneos. Primero, entra el agua a la tableta, luego se presenta hinchamiento del comprimido, a continuación se forma un gel, después se da la difusión del fármaco y otros excipientes hacia fuera del comprimido y finalmente se disuelve la matriz polimérica. (Shah & Deshpande, 2014) El modelo matemático se encuentra representado en la ecuación 6.

$$\boldsymbol{Q_t = K t^n} \tag{6}$$

El valor *n* define el mecanismo de liberación de fármacos. $Q_t$ es una fracción de fármaco liberada en un tiempo (t) y K es la constante de la velocidad de liberación. (Dash, Murthy, Nath, & Chowdhury, 2010)

- Modelo de Hixson-Crowell: Este modelo es utilizado en formas farmacéuticas donde hay cambio en el área superficial y el diámetro de la tableta; sirve para describir el perfil de liberación teniendo en cuenta que la superficie de las partículas de fármaco disminuye durante la disolución. La ecuación 7 representa este modelo matemático. (Shaikh, Kshirsagar , & Patil, 2015)

$$\boldsymbol{Q_0^{\frac{1}{3}} - Q_t^{\frac{1}{3}} = K_s t} \tag{7}$$

Donde $Q_0^{1/3}$ es la cantidad inicial de fármaco en la forma de dosificación farmacéutica, $Q_t^{1/3}$ es la cantidad remanente de fármaco en la forma farmacéutica en un tiempo (t) y $K_s$ es la constante que incorpora la relación superficie-volumen. (Costa & Sousa Lobo, 2001)

- Modelo de Baker-Lonsdale: Este modelo ha sido utilizado para linealizar los datos de liberación de varias formulaciones de microcápsulas o microesferas. Se encuentra definido por la ecuación 8. (Costa & Sousa Lobo, 2001)

$$\boldsymbol{f_t = \frac{3}{2}\left[1 - (1 - Q_t)^{2/3}\right] - Q_t = kt} \qquad (8)$$

Donde k es la constante de liberación, $Q_t$ es la cantidad de fármaco liberado respecto al tiempo (t).

### *2.2.4. Sistemas matriciales*

Con el fin de modificar la velocidad de liberación de los fármacos sin necesidad de utilizar costosos procesos tecnológicos, se han desarrollado formulaciones en forma de matrices, la cuales llevan el fármaco disperso de manera uniforme y lo liberan mediante mecanismos de difusión. (Costa, Arancibia, & Aiache, 2004)

La comprensión de los mecanismos de liberación de fármacos desde sistemas matriciales y el empleo de los datos de estudios *in vivo* e *in vitro* para asociar la liberación a modelos matemáticos que describan estos mecanismos, ha permitido el diseño de nuevas formas farmacéuticas de liberación modificada utilizando asociaciones de varios tipos de matrices. (Costa, Arancibia, & Aiache, 2004)

Existen tres tipos de matrices poliméricas: matrices inertes, plásticas o insolubles, matrices hidrofílicas y matrices lipídicas.

Las matrices inertes se caracterizan porque forman una red porosa insoluble en pH ácido que no es tóxica. La liberación del fármaco se da a través de los poros de la matriz y la velocidad de liberación depende de otros factores como la concentración y la solubilidad del fármaco; estas matrices suelen ajustarse al modelo de Higuchi y son más comunes es formas farmacéuticas de liberación retardada. Algunos de estos polímeros podrían ser cloruro de polivinilo, polietileno, ect. (Costa, Arancibia, & Aiache, 2004)

Las matrices hidrofílicas son obtenidas al comprimir un principio activo relativamente soluble con un polímero no digerible que actúa como gelificante, que se hidrata y se hincha al contacto con los fluidos gástricos, y el fármaco tiende a difundir progresivamente a través de esta capa gelificada. Un ejemplo de estos polímeros son los derivados de celulosa como HPMC, algunas gomas, entre otros. (Costa, Arancibia, & Aiache, 2004)

Finalmente, en las matrices lipídicas el principio activo es suspendido en un excipiente de carácter lipídico en el que queda atrapado. Su proceso de

fabricación es más complejo que los anteriores y el mecanismo de liberación del fármaco suele depender de la naturaleza del excipiente lipídico. (Costa, Arancibia, & Aiache, 2004)

De acuerdo a esto, pueden presentarse dos formas de liberación del fármaco: si el lípido no es digerible el modelo cinético de liberación del fármaco se ajustará a Higuchi, ya que la matriz no se destruye en pH gástrico; si el lípido es digerible se presentará un fenómeno de erosión debido a la hidrólisis de las grasas, por lo que se ajustará mejor a las cinéticas de orden cero o primer orden, dependiendo de la geometría de la matriz. (Costa, Arancibia, & Aiache, 2004)

### 2.2.5. *Validación de métodos analíticos*

Según la definición establecida por AEFI (Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria), la validación de un método analítico "es el establecimiento de evidencia documental de que un procedimiento analítico conducirá, con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos". (AEFI, 2001)

El objetivo de una validación es demostrar que el método que se está utilizando es adecuado para analizar el fármaco o metabolito bajo ciertas condiciones experimentales.

Para que un método sea validado debe cumplir con varios criterios fundamentales: Selectividad, linealidad, precisión, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación. (AEFI, 2001)

A continuación se presentarán las definiciones de cada uno de estos parámetros según la guía de AEFI para validación de métodos analíticos.

La selectividad indica la capacidad que tiene el método para identificar los analítos de interés, sin presentar interferencias aún en presencia de otras sustancias que puedan estar presentes en la muestra. (AEFI, 2001)

La linealidad es la capacidad del método de aportar resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra. (AEFI, 2001)

La precisión es la capacidad de un método de proporcionar resultados que sean próximos entre sí y se estudia en tres niveles: La repetibilidad que es la precisión del método, la precisión intermedia que estudia la precisión ante cambios entre analistas, equipos y días, y la reproducibilidad que evalúa la precisión entre diferentes laboratorios. (AEFI, 2001)

La exactitud expresa la proximidad entre el valor teórico y el valor encontrado experimentalmente.

El límite de detección es la mínima cantidad de analito que puede ser detectado en una muestra, pero no necesariamente cuantificado.

El límite de cuantificación es la mínima cantidad de analito que puede ser cuantificada con exactitud y precisión.

Si el método de análisis que se está validando cumple por lo menos estos parámetros fundamentales, se puede decir que es apto para ese procedimiento experimental y que los resultados que se obtendrán a partir de este son seguros y confiables.

## 2.3. Objetivos

### *2.3.1. Objetivo General*

Desarrollar un procedimiento estandarizado para evaluar los modelos cinéticos de liberación de fármacos para formas farmacéuticas sólidas mediante datos obtenidos a través de perfiles de disolución de fármacos, utilizando carbamazepina como principio activo modelo .

### *2.3.2. Objetivos específicos*

- Obtener los perfiles de disolución de formas farmacéuticas sólidas, utilizando carbamazepina como principio activo modelo.

- Evaluar los modelos cinéticos de liberación de fármacos a partir de los datos obtenidos en los perfiles de disolución de las formas farmacéuticas sólidas de carbamazepina.

- Desarrollar una herramienta de cálculo con su respectivo procedimiento operativo estandar para obtener los modelos cinéticos de liberación de fármacos para formas farmacéuticas sólidas.

## 2.4. Metodología

La metodología se dividió en varias etapas para cumplir los objetivos planteados en el proyecto. Las instalaciones y equipos utilizados hacen parte del Laboratorio de Instrumentación Química (LIQ) de la Universidad Icesi.

Se evaluaron dos referencias de Carbamazepina, correspondientes a Tegretol Retard de 200 mg (Medicamento innovador) y Carbamazepina MK Retard 200 mg (Medicamento genérico), con el fin de comparar las formulaciones farmacéuticas y determinar la similitud de las curvas de disolución.

### *2.4.1. Perfiles de disolución*

Se realizaron 5 perfiles de disolución de 24 horas, se utilizaron un total de 15 tabletas de Tegretol Retard de 200 mg y 15 tabletas de Carbamazepina MK Retard de 200 mg.

Los perfiles de disolución se llevaron a cabo teniendo en cuenta las especificaciones de la Farmacopea Americana (USP) y la FDA (Por sus siglas en Inglés, Food and Drugs Administration). Según la USP en la monografía individual de la Carbamazepina en Tabletas de Liberación Prolongada, los ensayos de disolución se deben realizar según las parámetros mostrados a continuación.

Tabla 1. Especificaciones de Ensayo de Disolución para CBZ en Tabletas de Liberación Prolongada según la USP 39 – NF 34.

| Carbamazepina, Tabletas de Liberación Prolongada | |
|---|---|
| Tipo de aparato | Aparato 1, canastillas. |
| Cantidad de vasos | 6 |
| Revoluciones por minuto | 100 rpm |
| Temperatura del medio | 37ºC |
| Volumen/vaso | 900 mL |
| Medio de disolución | Agua |
| Tiempos de muestreo | 3, 6, 12 y 24 h |
| Condiciones instrumentales | UV |
| Longitud de Onda | Aprox. 284 nm |

Se realizaron los perfiles de disolución de las dos referencias comerciales de Carbamazepina en medio de disolución correspondiente a Agua Tipo I con el fin de determinar si las tabletas cumplen el ensayo de disolución; sin embargo, el aparato que se utilizó fue el 2, correspondiente al disolutor de paletas. Para este caso se utilizaron 6 tabletas de Carbamazepina de cada una de las referencias; los perfiles de disolución se realizaron en disolutores diferentes pero de manera simultánea. Además, se tuvieron 15 tiempos de muestreo presentados en la tabla 2. Así mismo, la longitud de onda de análisis fue de 285 nm y el método espectrofotométrico que se utilizó fue el lector de platos.

También se realizaron tres perfiles de disolución adicionales a cada una de las referencias de tabletas, a tres niveles de pH diferentes, correspondientes a 1,2, 4,5 y 7,4. Los niveles de pH recomendados por la FDA para este tipo de análisis son 1,2, 4,5 y 6,8, pero se aplicaron variaciones con el objetivo de permitir la comparación de los resultados obtenidos de estas referencias comerciales con investigaciones que se han llevado a cabo en la universidad, donde se prueba el comportamiento de algunas matrices poliméricas en la modificación de la velocidad de liberación de carbamazepina.

Se realizó un perfil de disolución por cada nivel de pH, y se utilizaron 3 vasos para Tegretol y 3 vasos para Carbamazepina MK en todos los casos. Las condiciones experimentales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 2. Condiciones experimentales para los perfiles de disolución de Carbamazepina a distintos pH.

| Perfiles de disolución para CBZ en distintos pH | |
|---|---|
| Tipo de aparato | Aparato 2, paletas. |
| Cantidad de vasos | 6 |
| Revoluciones por minuto | 75 rpm |
| Temperatura del medio | 37ºC |
| Volumen/vaso | 900 mL |
| Medio de disolución | Agua |
| Tiempos de muestreo | 10, 20, 30, 40, 50, 60 min, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 7h, 8h, 12h, 24h |
| Condiciones instrumentales | UV |
| Longitud de Onda | 285 nm |

Los volúmenes de muestreo fueron de 3 mL mediante el uso de jeringas plásticas, también se utilizaron filtros de polietileno de ultra alto peso molecular de 0,45 µm. Se tomaron 15 muestras de medio de disolución con fármaco por cada uno de los vasos, lo que genera un total de 90 muestras por perfil de disolución. Las muestras fueron almacenadas en tubos Eppendorf de 2 mL, y el volumen restante fue adicionado al tarro de desechos. Las absorbancias de las muestras se leyeron inmediatamente después de terminar el ensayo.

Debido a la gran cantidad de muestras generadas a partir de los perfiles de disolución, utilizar un espectrofotómetro UV-Vis de una sola celda extendería demasiado los análisis. A causa de lo anterior, se optó por utilizar el lector de platos.

### *2.4.2. Método de cuantificación de Carbamazepina en diferentes medios de disolución.*

Se utilizó el lector de platos para cuantificar el porcentaje de Carbamazepina disuelta en los medios de disolución. A partir de los 2 mL de muestra contenida en los tubos Eppendorf, se tomaron 50 µL y se depositaron en el plato Elisa, este volumen se completó a 200 µL con una solución diluyente compuesta por Buffer pH 6,8/Metanol en proporción 60:40. El equipo está acoplado a un Software para análisis de Datos conocido como Gen5™ de BioTek, que ofrece la posibilidad de reducir datos; lo que se entendería como la corrección de la señal frente a un blanco. (BioTek).

La dilución de las muestras se realiza en Metanol debido a que el fármaco es muy soluble en este solvente, por lo que ayudaría a disolver las partículas de carbamazepina que puedan encontrarse en suspensión y que podrían precipitarse o producir interferencias en la lectura de la absorbancia.

El Buffer pH 6,8 se utilizó debido a que según un estudio realizado (Buist, et al., 2015) cuando la carbamazepina entra en contacto con ácidos fuertes, tiende a desplazar su equilibrio, ya sea a formas de sales anhidras o hacia formación de sales hidratadas, a causa de la protonación del átomo de oxígeno de la amida, lo que podría afectar sus propiedades de solubilidad; por tanto, utilizar esta solución amortiguadora de pH neutro puede devolver la carbamazepina a su molécula nativa y de esta manera disminuir las alteraciones de la muestra.

A pesar de que el lector de platos es preciso para realizar las lecturas, este método no se encuentra validado. Por lo tanto, para que los resultados de esta investigación sean válidos, se realizó la estandarización y verificación del método de cuantificación de la concentración de carbamazepina en diferentes medios de disolución a través del lector de platos.

### *2.4.3. Verificación del método de cuantificación de Carbamazepina por medio del lector de platos para ensayos de disolución.*

Para realizar la verificación del método se probaron los parámetros de linealidad, precisión, selectividad, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación en una serie de muestras preparadas y analizadas por el lector de platos.

Otro aspecto para mencionar es que el equipo cumple con los principios planteados por la química verde, Se tuvo en cuenta que el equipo hace parte de la química verde y busca reducir al máximo la cantidad de residuos vertidos al medio ambiente, por lo que se optó por utilizar volúmenes pequeños para este experimento. (Isan, 2015)

La preparación de muestras y los procedimientos que se llevaron a cabo para verificar la utilidad del equipo se encuentran registrados paso por paso en el Anexo 1 de este documento, titulado como "Protocolo de trabajo para verificación de la cuantificación de carbamazepina por medio del lector de platos para ensayos de disolución". Los resultados obtenidos son explicados en la sección 2.5.1.

### *2.4.4. Herramienta de cálculo y procedimiento operativo estándar respectivo.*

La herramienta de cálculo se creó con la intensión de determinar el modelo cinético de liberación de fármacos al que mejor se ajustan los datos obtenidos por medio de los perfiles de disolución.

Para realizarla se tuvieron en cuenta 6 modelos matemáticos muy utilizados en formas farmacéuticas sólidas, entre los que se encuentran: Orden cero, primer Orden, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell y Baker-Londsdale.

Las ecuaciones respectivas a cada modelo fueron linealizadas por medio de transformaciones matemáticas y organizadas en dos ejes, correspondientes a "x" y "y". Se calcularon las constantes de velocidad de disolución (k) y los coeficientes de determinación ($R^2$). El $R^2$ presenta valores desde cero hasta 1 y es una medida de la capacidad de ajuste del modelo a los datos; por lo que al analizar la plantilla, se considera que el perfil de disolución del medicamento se ajusta al modelo que presente el $R^2$ más cercano a 1 y la k más alta. (Modelo de Regresión lineal)

En el procedimiento operativo estándar se registró la manera en que se deben introducir los datos de porcentaje disuelto respecto al tiempo en la plantilla de Excel; además, se mostró de manera breve la forma de analizar los resultados obtenidos de las constantes y coeficientes de determinación de los modelos cinéticos de liberación de fármacos.

### *2.4.5. Tratamiento de los datos.*

Después de obtener las absorbancias de las muestras en el lector de platos, estas fueron normalizadas a porcentaje de fármaco disuelto con respecto al tiempo.

Para encontrar estos valores se utilizó la curva de calibración obtenida en la verificación del método para evaluar el parámetro de linealidad, donde se usa solución diluyente de Buffer pH 6,8/Metanol 60:40. (Ver ítem 2.5.1.1)

Esta curva de calibración presentó un valor de intercepto con el eje Y (a) de -0,016, pendiente (m) de 0,0074 y $R^2$ de 0,996. El volumen de muestra extraída fue 3 mL, los cuales se descuenta de manera acumulativa al volumen total de medio de disolución en que se encuentra la tableta. Los cálculos se muestran a continuación:

$$\boldsymbol{ppm} = \frac{\boldsymbol{Abs - a}}{\boldsymbol{b}} \tag{9}$$

La ecuación 9 corresponde a la concentración de fármaco en el medio de disolución en partes por millón, para hallar el porcentaje disuelto teniendo en cuenta los volúmenes de muestra a través del tiempo se utiliza la ecuación 10.

$$\%\,\boldsymbol{disuelto} = \frac{\boldsymbol{Concetranción\ de\ fármaco\ en\ ppm}}{\left[\frac{\boldsymbol{200\ mg x 1000\ mL}}{\left(\boldsymbol{900\ mL - \left((n-1)\ x\ 3\right)}\right) \boldsymbol{x\ L}}\right]} \boldsymbol{x100} \tag{10}$$

Donde n corresponde a la cantidad de muestras tomadas en el tiempo correspondiente.

## 2.5. Resultados

### *2.5.1. Verificación del método de análisis*

Se realizó la verificación del método espectrofotométrico del lector de platos para la cuantificación de porcentaje disuelto de carbamazepina en diferentes medios de disolución. Los resultados se muestran a continuación:

#### *2.5.1.1. Linealidad*

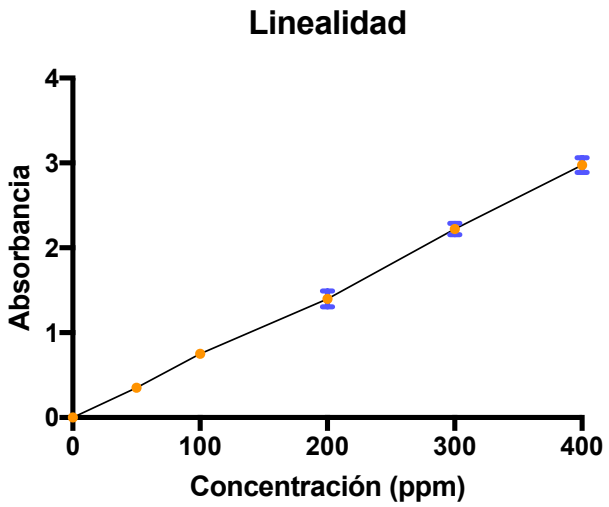
Se utilizaron los datos obtenidos de la curva de calibración del estándar, mostrados a continuación en la tabla 3.

Tabla 3. Datos de linealidad de CBZ en medio diluyente.

| LINEALIDAD | | | |
|---|---|---|---|
| **Concentración (ppm)** | **Absorbancia corregida** | | |
| | **Curva 1** | **Curva 2** | **Curva 3** |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 50 | 0,374 | 0,344 | 0,337 |
| 100 | 0,795 | 0,731 | 0,729 |
| 200 | 1,331 | 1,36 | 1,506 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 300 | 2,299 | 2,168 | 2,201 |
| 400 | 2,9 | 2,948 | 3,073 |

También se realizó la gráfica de los datos con el fin de observar su comportamiento lineal y obtener la pendiente, el intercepto y el coeficiente de determinación.




Gráfica 1. Curva de Linealidad – Carbamazepina en medio diluyente.

A partir de la Gráfica 1, se obtuvieron los resultados de los coeficientes de correlación y determinación, los cuales se presentan en la tabla 4, mostrada a continuación.

Tabla 4. Resultados de la ecuación de la recta.

| ECUACIÓN DE LA RECTA | |
|---|---|
| Intersección, a: | -0,016 |
| Pendiente, b: | 0,007 |
| Coef. Correlación, r: | 0,998 |
| Coef. Determinación, r2: | 0,997 |

Otra forma de comprobar la linealidad del método es mediante un test de verificación de la pendiente o de la linealidad, donde se calculan la varianza residual ($S^2_{y,x}$) y la varianza de la pendiente ($S^2_b$); a partir de estas se halla un valor de t experimental ($t_{exp}$), que se compara con un t extraído de tablas estadísticas ($t_{tablas}$). Para esta prueba se obtuvieron los siguientes resultados:

$S^2_b = 1{,}75*10^{-8}$

$S^2_{y,x} = 0{,}0139$

$S_b$= 1,323*$10^{-4}$

b=0,0074

Test de t

$t_{exp}$= 55,96

$t_{tablas}$= 2,11

Intervalos de confianza: 0,0074 ± 2,79*$10^{-4}$

Otra prueba realizada fue el test de Cochran, para comprobar la homogeneidad de varianzas:

Tabla 5. Tabla de datos para el test de Cochran.

| Variacion de los factores de respuesta (f): | | | |
|---|---|---|---|
| **Concentración (%)** | **Promedio Respuesta** | **Desv. Est** | **Varianza (s2)** |
| 0 | 0,000000000 | 0,000000000 | 0,000000000 |
| 23 | 0,007033333 | 0,000393107 | 0,000000155 |
| 45 | 0,007516667 | 0,000375411 | 0,000000141 |
| 90 | 0,006995000 | 0,000468962 | 0,000000220 |
| 135 | 0,007408889 | 0,000227116 | 0,000000052 |
| 180 | 0,007434167 | 0,000223276 | 0,000000050 |
| **PROMEDIO** | 0,006064676 | 0,000281312 | 0,000000103 |

Se halló un $G_{exp}$ correspondiente a 0,35654 y se tomó un $G_{tabla}$ (α=0.05, K=5, n=3) correspondiente a 0,683.

Además, se realizaron las curvas de calibración en los demás medios para observar si la Carbamazepina presenta un comportamiento lineal en esos medios. Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 6. Datos de linealidad de CBZ en diferentes medios de disolución.

| LINEALIDAD | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Concentración (ppm)** | **Absorbancia corregida** | | | |
| | **Agua** | **pH 1,2** | **pH 4,5** | **pH 7,4** |
| 0 | -0,1 | -0,096 | -0,094 | -0,093 |
| 50 | 0,118 | 0,112 | 0,135 | 0,04 |
| 100 | 0,39 | 0,126 | 0,167 | 0,101 |
| 200 | 0,668 | 0,434 | 0,428 | 0,327 |
| 300 | 1,115 | 0,617 | 0,558 | 0,567 |
| 400 | 1,298 | 0,585 | 0,638 | 0,719 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Intercepto** | -0,0398 | 0,0522 | 0,0206 | -0,0606 |
| **Pendiente** | 0,0036 | 0,8820 | 0,9610 | 1,1051 |
| **Coeficiente de determinación ($R^{2)}$** | 0,9839 | 0,9327 | 0,9813 | 0,9586 |

*2.5.1.2. Precisión*

A partir del modelo de mediciones que se estableció en el protocolo de verificación, se evaluó el coeficiente de variación para determinar la precisión intermedia y la repetibilidad, entendida en términos de la precisión del sistema y la precisión del método.

Para evaluar la precisión del sistema instrumental, que estudia la variabilidad debida únicamente al instrumento, se analizó una misma muestra (6 veces), a concentración nominal. Las absorbancias obtenidas fueron convertidas en valores de concentración (ppm) utilizando la pendiente y el intercepto de la curva de linealidad. Los datos se muestran a continuación:

Tabla 7. Repetibilidad del sistema instrumental.

| **Repetibilidad del sistema instrumental** | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Analista 2 - Día 3** | | | | | | **Promedio** | **Desv. Est.** | **%CV** |
| 220,92 | 219,03 | 215,53 | 213,92 | 217,42 | 214,99 | 216,97 | 2,66 | 1,23 |

Para evaluar la Precisión del método, se realizó la lectura de una serie de muestras que fueron preparadas por el mismo analista y leídas por el mismo instrumento.

Se prepararon 3 muestras a tres niveles de concentración correspondientes a 50, 100 y 150% de la concentración de las tabletas de carbamazepina, como se muestra en la tabla 8.

Tabla 8**.** Repetibilidad del método.

| **Repetibilidad del método** | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Día 2 - Analista 2** | | | | | | | | | | |
| | | Concentración (ppm) | | | | | | | | |
| **Nivel** | **Rep** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **Prom** | **Des.Est** | **%CV** |
| 50% | **Rep 1** | 101,03 | 100,90 | 106,29 | 104,67 | 104,13 | 101,84 | 103,14 | 2,21 | 2,14 |
| | **Rep 2** | 98,47 | 98,07 | 97,39 | 98,61 | 103,59 | 102,51 | 99,77 | 2,60 | 2,60 |
| | **Rep 3** | 97,26 | 96,05 | 96,72 | 97,93 | 101,30 | 101,17 | 98,40 | 2,28 | 2,31 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 100 % | **Rep 1** | 201,12 | 199,10 | 206,51 | 209,60 | 196,27 | 206,37 | 203,16 | 5,12 | 2,52 |
| | **Rep 2** | 216,88 | 207,72 | 206,10 | 216,61 | 217,01 | 220,38 | 214,12 | 5,77 | 2,70 |
| | **Rep 3** | 209,07 | 210,82 | 199,91 | 203,81 | 199,50 | 202,33 | 204,24 | 4,72 | 2,31 |
| 150 % | **Rep 1** | 274,94 | 288,81 | 294,33 | 293,12 | 286,93 | 289,75 | 287,98 | 6,96 | 2,42 |
| | **Rep 2** | 276,28 | 297,16 | 305,78 | 296,09 | 295,55 | 294,33 | 294,20 | 9,69 | 3,29 |
| | **Rep 3** | 278,84 | 294,20 | 274,67 | 280,86 | 283,15 | 279,65 | 281,90 | 6,64 | 2,36 |
| | | | | | | | | | % CV prom | 2,52 |

De igual manera, para la precisión intermedia se realizaron varios análisis sobre la misma muestra, en el mismo laboratorio pero en condiciones operativas diferentes. Para esto, se variaron los días de análisis y los analistas.

Debido a la extensión del ensayo los resultados obtenidos se resumen en una tabla donde se muestran los coeficientes de variación globales entre analistas y días.

Tabla 9. Precisión intermedia.

| **Precisión intermedia** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dia 1 | | Dia 2 | | Dia 3 | |
| | Analista1 | Analista2 | Analista1 | Analista2 | Analista1 | Analista2 |
| %CV | 3,94 | 2,24 | 2,66 | 2,52 | 2,82 | 2,57 |
| %CV prom. | 3,09 | | 2,59 | | 2,70 | |
| %CV global | | | 2,79 | | | |

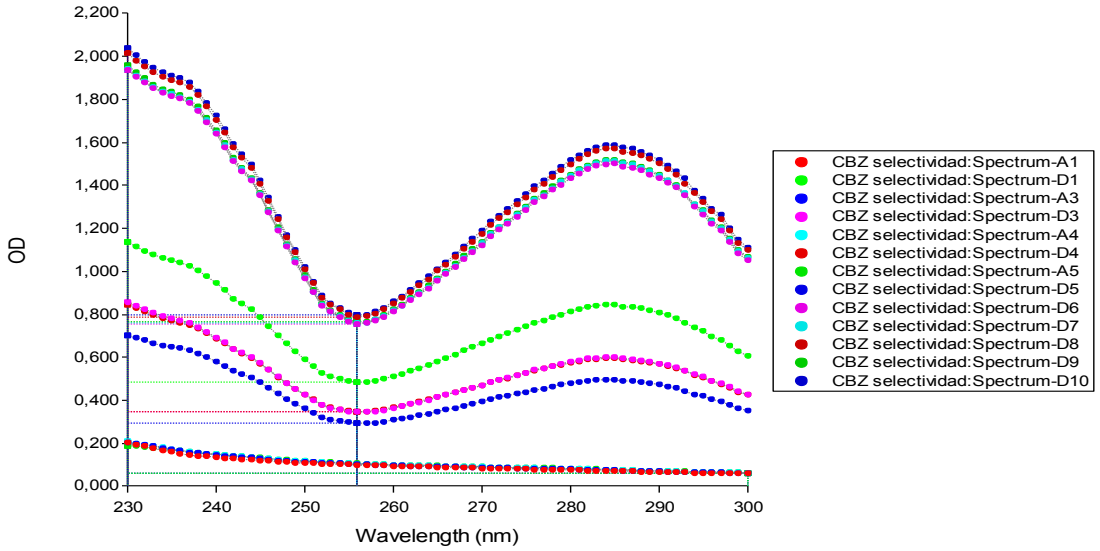
### *2.5.1.3. Selectividad o especificidad.*

Se realizó un barrido de absorbancias desde 230 – 300 nm, con el fin de identificar la longitud de onda de máxima absorbancia de la CBZ en cada uno de los medios, y las posibles interferencias que se pudieran presentar.

Se obtuvieron los resultados mostrados en la gráfica 1, presentada a continuación, y en la cual las líneas punteadas correspondientes a A1, A3, A4 y A5 que se encuentran representadas en la parte inferior, corresponden a las lecturas de absorbancia de los medios de disolución.

Las líneas punteadas correspondientes a D1, D3, D4 y D5 pertenecen a la lectura de los estándares de CBZ a baja concentración, en los diferentes medios de disolución, ubicadas en el medio de la gráfica.

Por último, las líneas punteadas correspondientes a D6, D7, D8, D9 y D10, pertenecen a la lectura de las absorbancias de las muestras a concentración nominal en los distintos medios de disolución.




Gráfica 2. Barrido de absorbancia de 230- 300 nm para CBZ en medios de disolución.

*2.5.1.4. Exactitud.*

A partir de las absorbancias obtenidas se determinó la concentración en ppm de Carbamazepina utilizando un valor de intercepto de -0,016 y una pendiente de 0,0074 que son los obtenidos en la curva de linealidad. Además, se calculó el porcentaje de recuperación del método, como se muestra en la tabla 12.

Tabla 10. Resultados del ensayo de Exactitud.

| **EXACTITUD** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Concentración (ppm)** | | | | | |
| **Analista 1** | | | | | |
| **1** | **2** | **3** | Promedio | | % de Recuperación |
| 118,81 | 113,29 | 115,45 | 115,85 | | |
| 111,00 | 112,08 | 114,50 | 112,53 | 113,96 | 102,57 |
| 111,40 | 116,52 | 112,62 | 113,51 | | |
| 221,46 | 222,67 | 227,79 | 223,97 | 227,40 | 102,33 |
| 234,26 | 232,91 | 227,66 | 231,61 | | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 229,68 | 223,08 | 227,12 | 226,62 | | |
| 346,06 | 341,62 | 346,74 | 344,80 | | |
| 345,25 | 343,23 | 337,44 | 341,98 | 343,55 | 103,07 |
| 345,66 | 347,27 | 338,65 | 343,86 | | |

2.5.1.5. *Límite de detección y cuantificación.*

Teniendo en cuenta que el lector de platos es un método espectrofotométrico que corrige la señal frente a un blanco, para el cálculo de los límites de detección y cuantificación se utilizaron puntos que se encontraban por debajo de la curva de calibración del estándar. Y se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 11. Resultados del ensayo de Límite de Detección y cuantificación.

| **LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Conc. (ppm)** | **Curva 1** | **Curva 2** | **Curva 3** | **Promedio** | **Desviación Estandar** |
| 0 | -0,019 | -0,024 | -0,020 | -0,021 | 0,003 |
| 5 | 0,020 | 0,028 | 0,020 | 0,023 | 0,005 |
| 10 | 0,036 | 0,036 | 0,033 | 0,035 | 0,002 |
| 25 | 0,181 | 0,193 | 0,177 | 0,184 | 0,008 |
| 50 | 0,383 | 0,388 | 0,389 | 0,387 | 0,003 |
| **Intercepto** | | | -0,031 | | |
| **Pendiente** | | | 0,008 | | |
| **Coeficiente de determinación ($R^{2)}$** | | | 0,994 | | |

Para llevar a cabo la determinación de los límites de detección y cuantificación se utilizó la ecuación 5, presentada a continuación:

$$C_l = \frac{K * S_{bl}}{b} \qquad \text{(Ecuación 11)}$$

Donde:

$C_L$: Concentración de analito en el límite de cuantificación o detección.
K: Constante que usualmente se considera igual a 10 para el LC e igual a 3 para el LD.
$S_{bt}$: Desviación estándar correspondiente a la señal del blanco o placebo

b: Pendiente de la curva de calibrado obtenida al representar la respuesta del método frente a la concentración del analito. El rango de esta recta tiene que ser cercano en concentraciones a los niveles de límite de cuantificación.

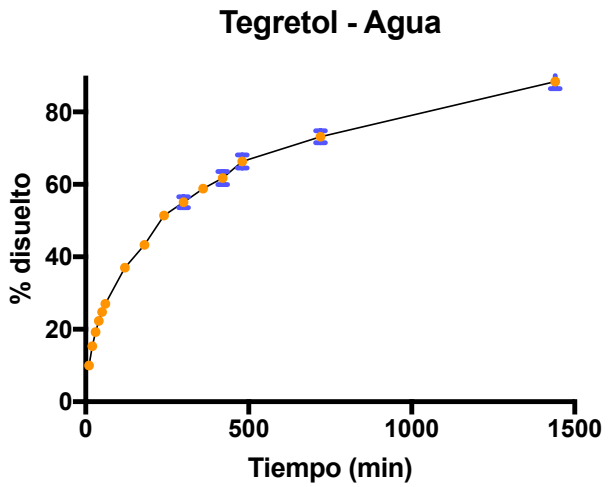
A partir de la ecuación anterior, se calcularon los límites de detección y cuantificación. Se obtuvo que el límite de detección es de 0,945 ppm y el límite de cuantificación es 3,150 ppm.

Después de realizar los parámetros de validación de la metodología analítica, se llevaron a cabo los perfiles de disolución.

### *2.5.2. Perfiles de disolución*

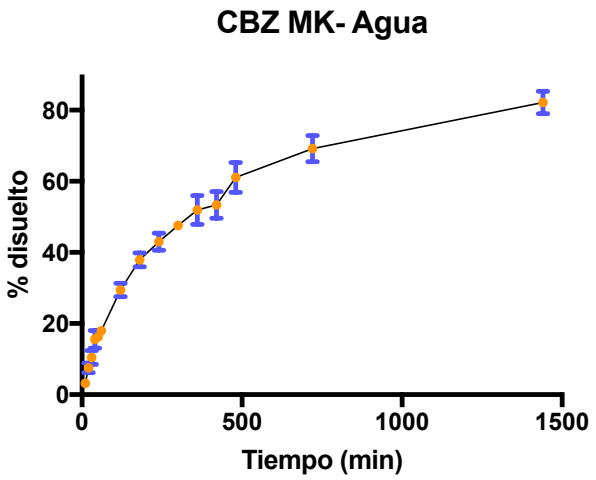
Se llevaron a cabo los perfiles de disolución en Agua para las dos referencias de tabletas (Tegretol Retard 200 mg y Carbamazepina MK Retard 200 mg). Se tomaron 15 tiempos de muestreo para cada uno, a temperatura de 37ºC. Las muestras extraídas se llevaron al lector de placas y se obtuvieron las absorbancias respectivas, estos datos fueron convertidos mediante las ecuaciones 9 y 10 para determinar los valores de porcentaje disuelto de fármaco en el medio.

Los datos correspondientes a los perfiles de disolución se encuentran en el anexo 3. La curva del porcentaje disuelto de Tegretol Retard en agua respecto al tiempo se muestra en la gráfica que aparece a continuación:




Gráfica 3. Perfil de disolución de Tegretol Retard en Agua

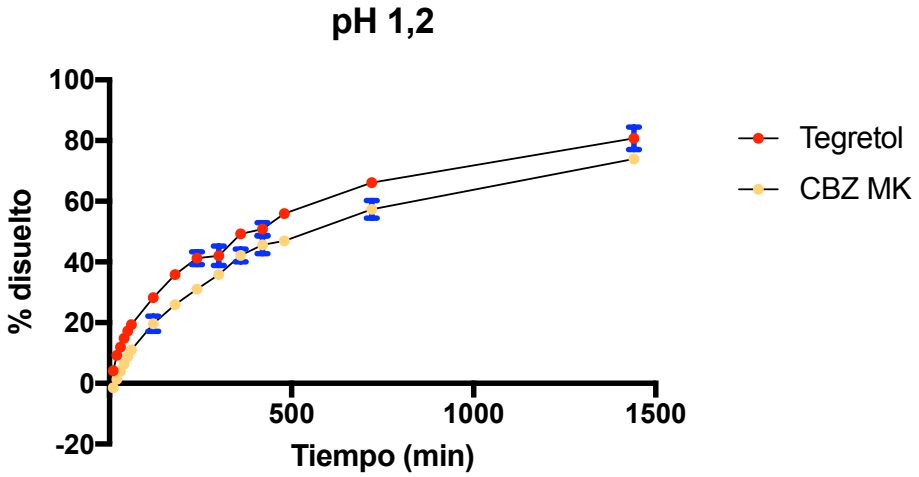
Para la Carbamazepina MK Retard se obtuvo la siguiente curva de liberación:




Gráfica 4. Perfil de disolución de Carbamazepina MK Retard en Agua.

Según las recomendaciones de la FDA (FDA, Food and Drug Administration, 2000) los estudios de disolución in vitro para productos de liberación modificada se deben realizar a 3 niveles de pH diferentes, dos de ellos correspondientes a un pH muy ácido que simule las condiciones de los jugos gástricos y otro a un pH neutro que simule las condiciones intestinales.

Las gráficas donde se representan las curvas de liberación de las dos referencias de tabletas de carbamazepina se presenta a continuación:

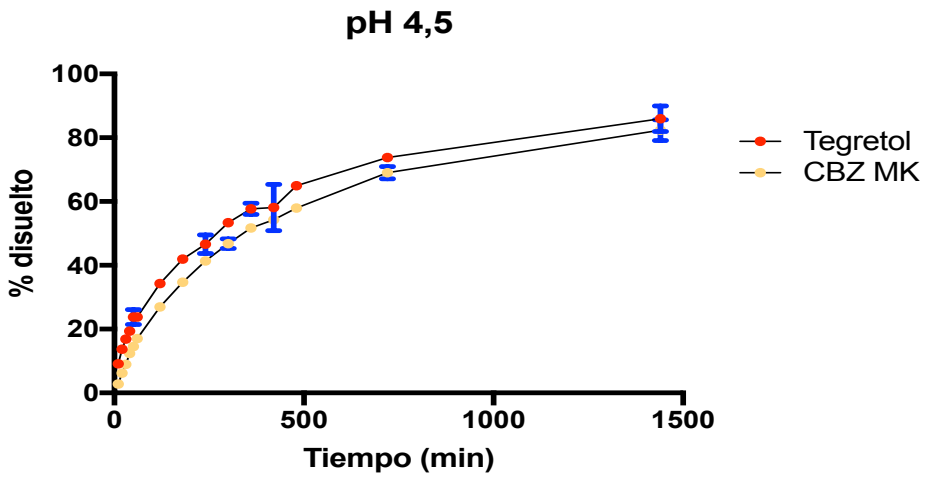



Gráfica 5**.** Perfiles de disolución comparativos entre Tegretol y CBZ MK en pH 1,2

Con los resultados obtenidos de porcentaje disuelto contra el tiempo se determinaron los parámetros f1 y f2, teniendo en cuenta las ecuaciones 1 y 2. Las tablas de cálculos se muestran en el anexo 3.

Para pH 1,2 se obtuvo un valor f2 de 54,64 y un valor de f1de 22,45.

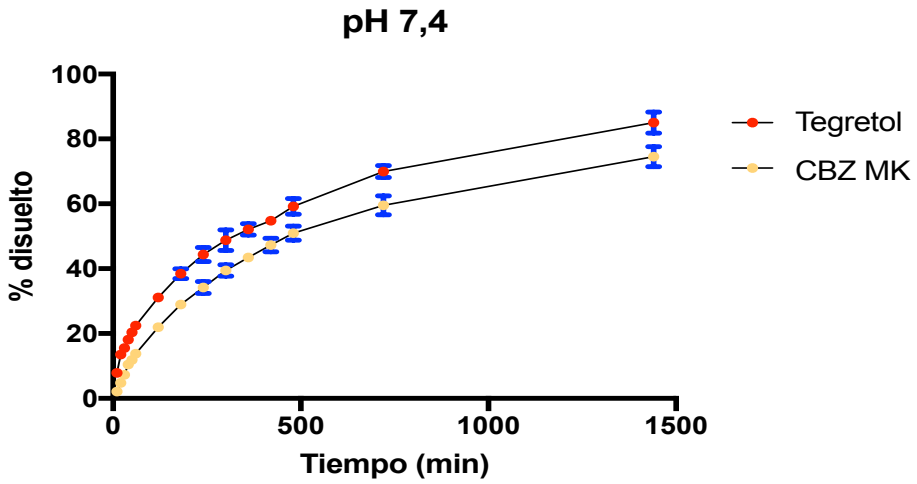
A continuación se muestran las curvas de liberación correspondientes a las dos referencias de carbamazepina en pH 4,5.




Gráfica 6. Perfiles de disolución comparativos entre Tegretol y CBZ MK en pH 4,5.

Para pH 4,5 se obtuvo un valor f2 de 58,80 y de f1 de 15,45.

Las curvas de liberación correspondientes a las dos referencias de carbamazepina en pH 7,4 se muestran a continuación:




Gráfica 7. Perfiles de disolución comparativos entre Tegretol y CBZ MK en pH 7,4.

Otro estudio que se realizó para determinar la similitud de las dos referencias de tabletas de liberación modificada fueron la determinación de los modelos cinéticos de liberación de fármacos; se determinó cual es el modelo matemático que se ajusta mejor a los datos obtenidos para cada referencia en cada uno de los pH.

Se evaluaron los modelos de Orden 0, Orden 1, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell y Baker-Lonsdale. Se observaron los valores de $R^2$ de cada modelo, entre más cercano a 1 mejor el ajuste.

A continuación se muestran los resultados para los perfiles de disolución de agua de forma resumida.

Tabla 12. Modelos cinéticos de liberación de las referencias de Carbamazepina en Agua.

| **Modelos** | **Tegretol - Agua** | | | **CBZ MK - Agua** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **k** | **R²** | **η** | **k** | **R²** | **η** |
| Orden 0 | 0,055 | 0,774 | | 0,057 | 0,777 | |
| Orden 1 | -0,001 | 0,962 | | -0,001 | 0,938 | |
| Higuchi | 2,385 | 0,959 | | 2,464 | 0,959 | |
| Korsmeyer-Peppas | 4,231 | 0,986 | 0,442 | 1,217 | 0,956 | 0,630 |
| Baker-Lonsdale | -0,040 | 0,798 | | -0,040 | 0,809 | |
| Hixson-Crowell | 0,002 | 0,909 | | 0,001 | 0,889 | |

De la misma manera, se muestran los resultados de modelos cinéticos para los perfiles de disolución en pH 1,2.

Tabla 13. Modelos cinéticos de liberación de las referencias de Carbamazepina en pH 1,2.

| **Modelos** | **Tegretol - pH 1,2** | | | **CBZ MK - pH 1,2** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **k** | **R²** | **η** | **k** | **R²** | **η** |
| Orden 0 | 0,054 | 0,815 | | 0,055 | 0,828 | |
| Orden 1 | -0,001 | 0,958 | | -0,001 | 0,951 | |
| Higuchi | 2,313 | 0,976 | | 2,326 | 0,981 | |
| Korsmeyer-Peppas | 1,656 | 0,969 | 0,570 | - | 0,938 | - |
| Baker-Lonsdale | -0,038 | 0,846 | | - | 0,875 | |
| Hixson-Crowell | 0,001 | 0,917 | | 0,001 | 0,915 | |

Los resultados de los modelos cinéticos para los perfiles de disolución en pH 4,5 se muestran en la tabla 26.

Tabla 14. Modelos cinéticos de liberación de las referencias de Carbamazepina en pH 4,5.

| **Modelos** | **Tegretol - pH 4,5** | | | **CBZ MK - pH 4,5** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **k** | **R²** | **η** | **k** | **R²** | **η** |
| Orden 0 | 0,055 | 0,777 | | 0,058 | 0,788 | |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Orden 1 | -0,001 | 0,949 | | -0,001 | 0,947 | |
| Higuchi | 2,397 | 0,960 | | 2,517 | 0,965 | |
| Korsmeyer-Peppas | 3,511 | 0,988 | 0,466 | 0,899 | 0,963 | 0,676 |
| Baker-Lonsdale | -0,040 | 0,801 | | -0,041 | 0,821 | |
| Hixson-Crowell | 0,002 | 0,898 | | 0,001 | 0,900 | |

Finalmente, los resultados de los modelos cinéticos para los perfiles de disolución en pH 7,4 se muestran en la tabla 27.

Tabla 15**.** Modelos cinéticos de liberación de las referencias de Carbamazepina en pH 7,4.

| **Modelos** | **Tegretol - pH 7,4** | | | **CBZ MK - pH 7,4** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **k** | **$R^2$** | **η** | **k** | **$R^2$** | **η** |
| Orden 0 | 0,055 | 0,819 | | 0,053 | 0,819 | |
| Orden 1 | -0,001 | 0,972 | | -0,001 | 0,943 | |
| Higuchi | 2,335 | 0,978 | | 2,258 | 0,978 | |
| Korsmeyer-Peppas | 3,082 | 0,991 | 0,477 | 0,651 | 0,965 | 0,705 |
| Baker-Lonsdale | -0,039 | 0,845 | | -0,036 | 0,855 | |
| Hixson-Crowell | 0,001 | 0,931 | | 0,001 | 0,906 | |

## 2.6. Discusión

### *2.6.1. Verificación del método de análisis*

Para la verificación del método analítico se evaluaron los parámetros de: linealidad, precisión, especificidad o selectividad, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación.

- La linealidad se realizó para comprobar que el método tiene capacidad de proveer resultados directamente proporcionales a la concentración del fármaco en la muestra. Para confirmar este parámetro se realizaron varias pruebas, entre ellas se evaluaron el coeficiente de correlación y determinación donde se encontró que son mayores a 0,995, por lo que cumple el criterio de aceptación para esta prueba.

Además se realizó el test de verificación de la pendiente, en el cual el criterio de aceptación es que si $t_{exp} > t_{tablas}$ la prueba de linealidad cumple con el test de verificación de la pendiente. Teniendo en cuenta que el $t_{exp}$ tiene un valor de 55,96 y el $t_{tablas}$ es 2,11, el método cumple esta prueba.

Finalmente, para comprobar la homogeneidad de varianzas se realizó el test de Cochran. El criterio de aceptación que se utilizó fue que si $G_{exp} < G_{tablas}$, el método cumple el test de homogeneidad de varianzas. Por lo que 0,35654 < 0,683 indica que las varianzas son homogéneas.

Teniendo en cuenta todas las pruebas analizadas anteriormente se puede decir que el método cumple el criterio de linealidad.

Las curvas de calibración que se realizaron en los demás medios para observar si la Carbamazepina presentaba un comportamiento lineal muestran coeficientes de determinación menores a 0,995. Esto puede deberse a que la carbamazepina es un fármaco clase II, que presenta baja solubilidad en medio acuoso, por lo que si no hay dilución del fármaco podrían presentarse alteraciones en la lectura de las absorbancias.

- La precisión determina la variabilidad del método de análisis, ya que es la capacidad que tiene el método de generar resultados que sean próximos entre sí. (AEFI, 2001). Los criterios de aceptación para la Precisión del sistema, precisión del método y precisión intermedia según AEFI, es que el coeficiente de variación debe ser menor al 2%, sin embargo este criterio es para métodos ya establecidos, pero no se tiene en cuenta un criterio de aceptación definido para el campo de investigación en liberación de fármacos. Debido a esto, y teniendo en cuenta que el método se evaluó contemplando variaciones en el pH, analistas y días, los coeficientes obtenidos son suficiente para aceptar la precisión del método.

- El parámetro de selectividad se evalúa para determinar la capacidad del método de identificar el fármaco de manera inequívoca, así se encuentre en presencia de otras sustancias químicas en la muestra. (AEFI, 2001).

Como se puede observar en la gráfica 2, los medios no presentan absorbancia significativa que pueda interferir en la lectura de la CBZ. Por lo que se concluyó que el método es selectivo para CBZ en diferentes medios de disolución.

- La prueba de exactitud expresa la proximidad entre el valor teórico y el valor experimental que ha sido encontrado. Se analizaron las muestras calculando finalmente el porcentaje de recuperación que se presenta en las lecturas.

Estos procesos por mucho que simulen el método de placebo cargado, son sólo una aproximación, debido a que en el producto acabado real el principio activo se encuentra muy bien mezclado con todos los excipientes de la formulación. (AEFI, 2001) Debido a esto, la eficacia de la recuperación obtenida puede llegar a ser más alta de lo que en realidad es.

Según AEFI, el criterio de aceptación de porcentaje de recuperación para un formulado farmacéutico está entre 97 – 103%. Por lo que con base en los resultados de la tabla 11, el método cumple el parámetro de exactitud.

- Para el límite de detección y cuantificación se obtuvo que puede detectar el analito hasta 0,945 ppm, y puede cuantificar de forma exacta y confiable hasta 3,150 ppm.

### *2.6.2. Perfiles de disolución*

Las tabletas de liberación retardada se caracterizan por poseer una cubierta entérica que evita que el fármaco sea liberado en condiciones ácidas, en cambio al entrar en contacto con pH neutro deberá presentarse la disolución de la forma farmacéutica.

Al observar los perfiles de disolución en los diferentes niveles de pH, la liberación a pH 1,2 es menor que en pH 4,5 y 7,4. Sin embargo, según las curvas de disolución de las dos referencias de tabletas en pH ácido, correspondientes a las gráficas 5 y 6, el fármaco comienza a liberarse rápidamente. Por lo anterior, se puede concluir que ninguno de los dos medicamentos presenta una cubierta entérica que proteja al fármaco de pH gástrico y por tanto la forma de liberación es prolongada, más no retardada como se declara en el nombre comercial.

Con los datos obtenidos del perfil de disolución se determinó si las tabletas de Tegretol cumplen con el test de Disolución <711> USP 39 – NF 34 y teniendo en cuenta lo anterior, los rangos de aceptación fueron evaluados según la monografía individual de Carbamazepina, Tabletas de liberación prolongada de 200 mg. A continuación se muestra la tabla de aceptación reportada en la farmacopea Americana con los rangos de tolerancia para porcentaje de fármaco disuelto respecto al tiempo en la monografía individual del fármaco.

Tabla 16. Tabla de Aceptación para Carbamazepina,
Tabletas de liberación prolongada según la USP.

| Tiempo (h) | Cantidad Disuelta |
|---|---|
| 3 | 10% - 35% |
| 6 | 35% - 65% |
| 12 | 65% - 90% |
| 24 | No menos de 75% |

Según los resultados reportados en la tabla 17, a las 3 horas (180 minutos) se tuvo un porcentaje promedio de fármaco disuelto de 43,33%; a las 6 horas (360 minutos) se observó un porcentaje de 58,86%; a las 12 horas (720 minutos) se disolvió un 73,13%; y a las 24 horas (1140 minutos) se disolvió 88,39%.

Como se puede observar, todos los porcentajes se encuentran dentro de los rangos estipulados para disolución de fármaco respecto al tiempo, por lo que podemos concluir que las tabletas de Tegretol Retard de 200 mg cumplen con el test de disolución de la USP.

También se evaluó la disolución de las tabletas de Carbamazepina MK Retard (Tabla 18) según el test de disolución reportado en la USP y se comparó con los porcentajes de tolerancia de la tabla de aceptación para Carbamazepina, Tabletas de liberación prolongada (Tabla 16).

Para este caso, se obtuvo un 37,88% de fármaco disuelto a las 3 horas; 51,91% a las 6 horas; 69,16% a las 12 horas y 82,18% a las 24 horas. Todos los resultados mencionados anteriormente se ajustan a los rangos de porcentaje reportados en la de aceptación (tabla 16). Por lo que se deduce que las tabletas de Carbamazepina MK Retard de 200 mg cumplen con el test de disolución de la USP.

Según las recomendaciones de la FDA (FDA, Food and Drug Administration, 2000) los estudios de disolución *in vitro* para productos de liberación retardada, deberían mostrar que son estables bajo condiciones ácidas y que liberan el principio activo solamente cuando se encuentran en pH neutro.

Para realizar comparaciones entre dos medicamentos de liberación retardada que tengan el mismo principio activo y excipientes similares se deben realizar perfiles de disolución a tres niveles de pH diferentes incluyendo un pH muy ácido que simule las condiciones de los jugos gástricos y un pH neutro que simule las condiciones intestinales.

Si se quisieran realizar estudios de bioequivalencia a partir de los resultados de los perfiles de disolución, entonces las dos curvas deben mostrar suficiente similitud entre ellas y para esto se evalúan los parámetros similitud (f2) y diferencia (f1). Sin embargo, así los parámetros amodelísticos determinen que las curvas son equivalentes, en el caso de la Carbamazepina por ser un medicamento anticonvulsivante se deben realizar estudios de bioequivalencia absoluta, por lo que no es posible hacer bioexenciones con otros medicamentos.

A pesar de lo dicho anteriormente, se evaluaron los parámetros f2 y f1 para determinar si las dos curvas poseen perfiles de disolución similares y por tanto velocidades de liberación de fármaco cercanas entre sí.

Para evaluar estos parámetros el perfil de disolución debe presentar mínimo 3 muestreos de fármaco disuelto en el tiempo; los datos escogidos para el estudio deben estar un punto por encima del 85% de fármaco disuelto, y los coeficientes de variación de las medidas realizadas en varios vasos para la misma referencia de tabletas no debe ser mayor a 20% en los primeros tiempos de muestreo y al 10% en el resto de tiempos.

Después de realizar los perfiles de disolución a los 3 niveles de pH, se calcularon los parámetro f2 y f1. Para pH 1,2 en los 15 tiempos de muestreo se obtuvo un factor de similitud correspondiente a 54,64 (Ver anexo 4). Teniendo en cuenta que el rango de aceptación para f2 oscila entre 50 y 100. Los perfiles de disolución son suficientemente similares para ser aceptados como equivalentes.

El factor f1 es una medida del error relativo entre las dos curvas y se buscan valores cercanos a cero. Para f1 en pH 1,2, se observó un valor de 22,45. El criterio de aceptación para este parámetro es de 0 a 15. Por lo que se encuentra por fuera de los límites establecidos.

Según los resultados de los perfiles de disolución a pH 4,5, se tiene un valor de f2 correspondiente a 58,80 y un valor de f1 de 15,45. Estos valores indican que los dos perfiles de disolución son similares, a pesar de que el factor de diferencia se sale un poco del rango aceptado.

Para pH 7,4 se obtuvo un valor de f2 de 52,56 y un valor de f1 correspondiente a 22,56, por lo que se puede concluir que hay alta similitud entre las dos curvas, pero no son iguales.

También se evaluaron los modelos cinéticos de liberación de fármacos en las dos referencias, y a partir de los resultados obtenidos se determinó que el Tegretol tiene mejor ajuste al modelo de Korsmeyer-Peppas, mientras que la Carbamazepina MK se ajustó mejor al modelo de Higuchi.

Esto podría explicar por qué las dos curvas de disolución son diferentes en los medicamentos. Según los modelos matemáticos a los que se ajustaron el mecanismo de liberación del Tegretol Retard se da mediante la entrada de agua a la tableta, seguido del hinchamiento de la matriz polimérica y la formación de un gel, después se presenta la difusión del fármaco y los excipientes hacia el medio de disolución y finalmente se da la disolución de los componentes de la matriz.

El mecanismo por el que se liberará la Carbamazepina MK Retard de las tabletas, será mediante difusión simple a través de una matriz geométrica y porosa.

## 2.7. Conclusiones

A partir de los resultados de la verificación se puede concluir que el método estandarizado cumple los parámetros de linealidad, precisión, selectividad y exactitud. Además, puede detectar el analito hasta una concentración de 0,945 ppm y cuantificarlo de forma exacta y confiable hasta una concentración de 3,150 ppm.

Por otro lado, en ninguno de los pH se cumplió con el rango de aceptación exigido para el factor de diferencia, f1; aunque el factor de similitud f2 se encontraba en el rango aceptado, las curvas presentaron similitud pero no suficiente para ser equivalentes.

Se debe tener en cuenta que la CBZ al ser un anticonvulsivante y tener estrecho margen terapéutico, no puede ser objeto de estudios de bioexención. Por lo que

estas pruebas no son suficientes para demostrar la bioequivalencia de los dos medicamentos.

El medicamento Tegretol Retard de 200 mg presentó un mejor ajuste al modelo cinético de liberación de fármacos de Korsmeyer-Peppas, por lo que su mecanismo de liberación está asociado a el hinchamiento de la matriz polimérica, seguido de la formación de un gel y la difusión del fármaco y los excipientes hacia el medio de disolución para finalmente obtener la disolución de la matriz.

La Carbamazepina MK Retard de 200 mg se ajustó mejor al modelo de Higuchi, lo que quiere decir que el mecanismo de transporte del fármaco se da por medio de difusión simple a través de una matriz porosa.

Finalmente, se estandarizó y verificó un método analítico que responde de manera adecuada a la evaluación de perfiles de liberación modificada, utilizando carbamazepina como principio activo modelo y evaluando su comportamiento en diferentes pH.

Además se comprobó la funcionalidad de la plantilla de Excel generada para optimizar la obtención de los modelos cinéticos de liberación de fármacos, que es una forma no convencional para evaluar de los perfiles de disolución y aporta información mucho más útil que la que aportan los parámetros amodelisticos acerca de la formulación de los medicamentos, tal como mecanismo de liberación y posible influencia de los componentes de la matriz.

## 2.8. Recomendaciones

Se debe realizar la validación del método con base en los parámetros realizados a través de la verificación.

También se debe tener en cuenta leer el procedimiento operativo estándar para el uso de la plantilla de Excel, debido a que podrían afectar el orden del documento y dañar el formato.

Por último, si se quieren realizar estudios de investigación posteriores a este proyecto acerca de los modelos cinéticos de liberación de fármacos para sistemas matriciales que utilicen Carbamazepina como principio activo modelo y se busca compararlo con datos de referencias comerciales, se deben llevar a cabo los ensayos bajo las mismas condiciones experimentales utilizadas para este proyecto, de lo contrario los resultados no tendrán validez.

## 2.9. Bibliografía


Manzano Yescas, O., & Morales Delgado, M. (s.f.). *Formas farmacéuticas sólidas, tabletas, parte IV*. (Grupo Gylsa) Recuperado el 25 de Abril de 2016, de Formas farmacéuticas sólidas: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/152001/Solidas_1.pdf

*Vademecum*. (19 de Marzo de 2007). Recuperado el 24 de Abril de 2016, de Carbamazepina: http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c015.htm

*Diccionario del catalogo sectorial de productos farmacéuticos*. (Mayo de 2014). Recuperado el 26 de Abril de 2016, de Tipos de liberación: http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Catalogacion/DIGEMID/Productos_Farmaceuticos/Diccionarios/D_Tipo_Liberacion.pdf

FDA. U.S. Food and Drug Administration. (Agosto de 1997). *FDA*. Recuperado el Abril de 2016, de Guía para la Industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata: http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm200707.htm

FDA, U.S. Food and Drugs Administration. (Octubre de 2000). *FDA*. Recuperado el Abril de 2016, de Estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia para productos farmacéuticos administrados oralmente - consideraciones generales: http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm201469.htm

(Abril de 2013). Recuperado el Abril de 2016, de Ficha técnica de la Carbamazepina Alter 200 mg: http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/62230/FT_62230.pdf

*USP. U.S. Pharmacopeial Convention*. (s.f.). Recuperado el Abril de 2016, de USP-NF: http://www.usp.org/es/tienda/productos-y-servicios/usp-nf

(2016). Carbamazepina Tabletas. En *USP 39 NF 34.* Estados Unidos.

Reavel S.A. (s.f.). Recuperado el Abril de 2016, de Disolutor de Comprimidos: http://reavel.com.mx/309165_Disolutor-de-comprimidos--.html

Aragón Fernández, J., González Santos, R., & Fuentes Estévez, G. (2009). Cinética de liberación de Cefalexiana desde un biomaterial compuesto por HAP-200/POVIA/CaCo3. *Revista Anal de la Real Académia Nacional de Farmacia , 75* (3), 345-363.

CENAMID (Centro Nacional de Documentación e Información de Medicamentos). (2 de Abril de 2006). *DIGEMID*. Recuperado el 6 de Mayo de 2016, de

Bioequivalencia: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica: http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Boletines/Cenadim/B11_2006_02.pdf

(2016). <711> Disolución. En *USP 39 NF 34.* Estados Unidos.

*Farmacopea* . (s.f.). (U. d. Chile, Productor) Recuperado el Abril de 2016, de Qué es una farmacopea: http://farmacopea.cl/que-es-una-farmacopea/

BioTek. (s.f.). *Lector de Absorbancia ELx800*. Recuperado el 29 de Octubre de 2016, de BioTek: http://www.biotek.es/es/products/microplate_detection/elx800_absorbance_microplate_reader.html?tab=overview

Buist, A. R., Edgeley, D. S., Kabova, E. A., Kennedy , A. R., Hooper, D., Rollo, D. G., y otros. (9 de October de 2015). Salt and Ionic Cocrystalline Forms of Amides: Protonation of Carbamazepina in Aqueous Media. *Crystal Growth & Design* .

AEFI. (2001). *Validación de métodos analíticos .* España.

FDA, Food and Drug Administration. (2000). *Estudios de Biodisponibilidad y Bioequivalencia para productos farmacéuticos administrados oralmente - consideraciones generales.* Guía para la industria, FDA, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos.

AEFI, Asociación Española de Farmacéuticos Industriales. Linealidad y Rango. En *Validación de métodos analíticos* (págs. 56-67). España.

Shaikh, H. K., Kshirsagar , R. V., & Patil, S. G. (2015). Mathematical Models for drug release characterization: A review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences , 4* (04), 324-338.

Ruiz, M. E. Bioequivalencia vs. Intercambiabilidad: el caso de Carbamazepina. En *La intercambiabilidad de medicamentos* (págs. 105-135).

Costa, P., & Sousa Lobo, J. M. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences , 13*, 123-133.

Shah, J. C., & Deshpande, A. (26 de March de 2014). Kinetic modeling and comparison of invitro dissolution profiles. *World Journal of Pharmaceutical Sciences* , 302-309.

Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniac Pharmaceutica - Drug Research , 67* (3), 217-223.

Costa, E., Arancibia, A., & Aiache, J. M. (2004). Sistemas matriciales. *Acta farmacéutica bonaerense , 23* (2), 259-265.

AEFI. (2001). Generalidades. En *Validación de métodos analíticos* (págs. 32-34). España.

*Carbamazepina*. (s.f.). Recuperado el 3 de Septiembre de 2016, de Facmed: http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Carbamazepina.htm

Isan, A. (20 de Enero de 2015). *Ecología Verde*. Recuperado el 6 de Diciembre de 2016, de ¿Qué es la química verde?: http://www.ecologiaverde.com/que-es-la-quimica-verde/

(s.f.). (B. d. Chile, Productor) Recuperado el Abril de 2016, de Factores que influyen en la biodisponibilidad: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/cide02/capitulo06/02.html

(s.f.). Recuperado el 6 de Diciembre de 2016, de Modelo de Regresión lineal: http://ocw.uv.es/ciencias-de-la-salud/pruebas-1/1-3/t_09nuevo.pdf

## ANEXOS

**Anexo 1**. Protocolo de Verificación

| | | |
|---|---|---|
| UNIVERSIDAD ICESI | **PROTOCOLO DE TRABAJO PARA VERIFICACIÓN DE LA CUANTIFICACIÓN DE CARBAMAZEPINA POR MEDIO DEL LECTOR DE PLATOS PARA ENSAYOS DE DISOLUCIÓN** | NÚMERO: |
| | | PÁGINAS: 50 de 68 |
| | | FECHA DE EMISIÓN: 1/DIC/2016 |

| **REALIZADO POR:** | **REVISADO POR:** | **APROBADO POR:** |
|---|---|---|
| Nombre: María Jimena Tascón | Nombre: Cristhian Yarce | Nombre:Giovanni Rojas – Claudia Marín |
| Firma: J. Tascón | Firma: C. Yarce | Firma: C. Marín – G. Rojas |
| Cargo: Estudiante de Química Farmacéutica | Cargo: Cotutor de Proyecto de Grado | Cargo: Directores de proyecto de grado |
| Fecha: 13/NOV/2016 | Fecha: 13/NOV/2016 | Fecha: 15/NOV/16 |

### 1 OBJETIVOS

**1.1** Verificación del método analítico de lector de platos para la cuantificación de Carbamazepina disuelta en diferentes medios de disolución.

**1.2** Describir las operaciones involucradas en el proceso de verificación del método analítico de cuantificación de Carbamazepina disuelta en diferentes medios disolución.

### 2 ALCANCE

Este documento está dirigido al personal del Laboratorio de Instrumentación Química de la Universidad Icesi.

### 3 ANTECEDENTES

La Carbamazepina (CBZ) es un principio activo cuyo efecto farmacológico esta dirigido a controlar convulsiones de diferente tipo. Es una molécula muy estudiada

y se ha probado que tiene alta permeabilidad en membranas y baja solubilidad acuosa. En presentaciones comerciales se puede encontrar como Tabletas de Liberación Inmediata y Tabletas de Liberación retardada. (Carbamazepina) Sin embargo, se continúan realizando estudios para modificar las formas de liberación y los excipientes que acompañan este fármaco con el fin de aumentar su eficacia.

Según la Farmacopea Americana (USP), para cuantificar la cantidad de Carbamazepina que se disuelve en un medio de disolución para llevar a cabo los análisis de control de calidad, se utiliza Espectrofotometría UV.(U.S Pharmacopeial Convention Inc, 2016) Sin embargo, para realizar los estudios cinéticos en tabletas de liberación retardada se utilizan 4 medios de disolución, por lo que los análisis a través del espectrofotómetro tomarían mucho tiempo e implicaría gastar mayor cantidad de reactivos.

Debido a esto, se optó por implementar la cuantificación de las muestras de Carbamazepina a través del Lector de platos. Esta es una opción más amigable con el medio ambiente, debido a que utiliza menor tamaño de muestra y posee mayor rapidez en los análisis.

## 4 RESPONSABILIDAD Y AUTORIDAD

**4.1** El estudiante encargado de la verificación deberá comprobar la linealidad, especificidad, precisión, exactitud y límite de detección y cuantificación del método analítico.

**4.2** El cotutor de proyecto de grado debe revisar el protocolo de trabajo que se esté realizando.

**4.3** Los directores del proyecto de grado, deben aprobar el protocolo de trabajo para realizar la verificación del método analítico.

## 5 DEFINICIONES

**5.1** *Método:* Modo de proceder organizado y sistemático para llegar a un resultado. (Método)

**5.2** *Curva de Calibración:* Muestra la relación proporcional entre la concentración y una señal analítica determinada. (Curva de Calibración)

**5.3** *Espectrometría Ultravioleta-Visible:* También conocida como Espectrofotometría UV-Vis, utiliza la luz en los rangos visible, ultravioleta cercano e infrarrojo cercano. Se utiliza en la determinación cuantitativa de iones metálicos y compuestos orgánicos conjugados. (Espectrofotometría F. d.)

**5.4** *Espectrofotómetro UV-Vis*: Mide la intensidad de luz que pasa a través de una muestra y la compara con la intensidad de luz antes de pasar a través de la

muestra, esta relación es conocida como trasmitancia (%T) y los resultados son expresados en términos de absorbancia. A= -log(%T). (Espectrofotometría)

**5.5** *Lector de Microplacas:* Está diseñado para atender aplicaciones dentro del área clínica, investigación biotecnológica y laboratorios farmacéuticos. Posee un pequeño tamaño y diseño robusto. Puede ser controlado a través del Software para Análisis de Datos Gen5™ de BioTek, el cual expande las capacidades del lector para incluir análisis cinético y de análisis de área de pozo. Gen5 ofrece una incomparable capacidad de reducción de datos, así como múltiples opciones para visualización y exportación de resultados. Cuando se usa de forma independiente, el software provee soluciones extensas para una gran variedad de aplicaciones cualitativas y cuantitativas. (BioTek)

**5.6** *Precisión:* Capacidad que tiene el método de generar resultados que sean próximos entre sí. (AEFI, Validación de métodos analíticos , 2001)

**5.7** *Linealidad:* Capacidad del método de generar resultados directamente proporcionales a la concentración del analito presente en la muestra.

**5.8** *Límite de detección:* Cantidad mínima de analito que un método puede detectar aunque con alto grado de precisión y exactitud.

**5.9** *Límite de cuantificación:* Cantidad mínima de un analito que puede determinarse cuantitativamente con alto grado de precisión y exactitud.

## 6 PARÁMETROS A EVALUAR DURANTE LA VERIFICACIÓN

**6.1** *Precisión:* Capacidad que tiene el método de generar resultados que sean próximos entre sí.

Se presenta en términos de Repetibilidad y Precisión intermedia.

**6.1.1** *Repetibilidad del sistema:* se calcula a partir de mediciones realizadas a la misma muestra, una vez que haya pasado por todo el proceso del método.

**6.1.2** *Repetibilidad del método:* se calcula a partir de mediciones realizadas a réplicas de una misma muestra que hayan pasado por todo el proceso del método y que hayan sido preparadas por el mismo analista.

**6.1.3** *Precisión intermedia*: Evalúa la precisión del método frente a variaciones internas del laboratorio (aparatos, reactivos, analistas y días de análisis).

**6.2** *Linealidad:* Capacidad del método de generar resultados directamente proporcionales a la concentración del analito presente en la muestra.

**6.3** *Selectividad o especificidad:* Capacidad del método analítico para determinar los analitos de interés de forma inequívoca, aun en presencia de otras sustancias.

**6.4** *Límite de detección:* Mínima cantidad de analito que puede ser detectado aunque no necesariamente cuantificado con precisión y exactitud.

**6.5** *Límite de cuantificación:* Mínima cantidad de analito que puede determinarse cuantitativamente con exactitud y precisión.

**6.6** *Exactitud:* Expresa la proximidad entre el valor verdadero o teórico y el valor encontrado experimentalmente.

## 7 MATERIALES Y EQUIPOS

### *7.1 ELEMENTOS DE HIGIENE Y SEGURIDAD PERSONAL*

Utilizar elementos de protección personal como: Bata de laboratorio que sea antifluidos, pantalón largo, zapatos cerrados, gafas de seguridad y guantes de nitrilo.

### *7.2 MATERIALES*

**7.2.1** Micropipetas de 20, 200, 1000 µL y 10 mL.
**7.2.2** Vasos de vidrio de 100 y 250 mL.
**7.2.3** Tubos eppendorf.
**7.2.4** Tubos falcon.
**7.2.5** Frascos Schott de 250 mL.
**7.2.6** Espátula de acero.
**7.2.7** Frasco lavador.
**7.2.8** Papel para pesar.
**7.2.9** Pesa sales.
**7.2.10** Gotero.
**7.2.11** Jeringas plásticas de 10 mL.
**7.2.12** Filtros desechables de Nailon de 0,45 µm para jeringa.
**7.2.13** Plato Eliza de 96 pozos.

### *7.3 REACTIVOS*

**7.3.1** Agua tipo II.
**7.3.2** Estándar de Carbamazepina.
**7.3.3** Carbamazepina (CBZ) 200 mg.
**7.3.4** Ácido Clorhídrico al 37%.
**7.3.5** Cloruro de Potasio.
**7.3.6** Ácido acético glacial.
**7.3.7** Acetato de Sodio trihidratado.
**7.3.8** Fosfato monobásico de potasio.
**7.3.9** Hidróxido de Sodio.
**7.3.10** Agua desionizada.

### *7.4 EQUIPOS*

**7.4.1** Balanza analítica
**7.4.2** Vortex.
**7.4.3** Ultrasonido.
**7.4.4** Plancha de agitación.
**7.4.5** Medidor de pH.
**7.4.6** Lector de Microplacas. BioTek.

## 8 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Por medio del presente procedimiento se evaluarán los siguientes parámetros: Especificidad o selectividad, precisión, linealidad, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación, para llevar a cabo la verificación del método analítico espectrofotométrico de lector de platos para la cuantificación de Carbamazepina en diferentes medios de disolución. ( FDA. U.S. Food and Drugs Administration, 1997)

### *8.1 PROCEDIMIENTO MÉTODO ANALÍTICO*

***Condiciones Espectrofotométricas:*** (ICH) (U.S Pharmacopeial Convention Inc, 2016)

- Equipo Lector de Microplacas. Biotek
- Plato Eliza 96 pozos.
- Temperatura de Lectura: 22 – 25 ºC.
- Volumen estándar de lectura: 200 µL
- Longitud de onda: 285 nm.
- Tiempo de agitación de la placa en el equipo: 40 segundos.

***Procedimiento para Preparación de Curva de Calibración de estándares de Carbamazepina con solución diluyente.***

***Solución buffer fosfato de pH 6,8:*** Tomar 50 mL de una solución de fosfato de potasio monobásico al 0,2M y adicionar 22,4 mL de una solución de hidróxido de sodio al 0,2M. Posteriormente, llevar a volumen con agua tipo I y verificar pH 6,8 ± 0,2.

***Solución diluyente: Buffer 6,8/Metanol 60:40:*** Tomar 40 mL de metanol grado HPLC y mezclar con 60 mL de la solución buffer fosfato de pH 6,8.

***Solución patrón de carbamazepina 1000 ppm con solución diluyente:*** Pesar 10 mg de CBZ ER y disolver en 10 mL de la solución diluyente, utilizar un vortex para agitación y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Utilizar tubo falcon para este procedimiento.

***Preparación de estándares de calibración:*** A partir de la solución patrón de 1000 ppm de CBZ preparar estándares de calibración en tubos eppendorf de 1,5 mL, según la tabla presentada a continuación:

**Tabla 1.** Concentración de estándares de calibración para cuantificación de CBZ.

| ***Nº Muestra*** | ***Concentración estándares (ppm)*** | ***Volumen final (ml)*** | ***Volumen adicional de medio (µL)*** | ***Volumen de Solución patrón (µL)*** |
|---|---|---|---|---|
| ***1*** | ***50*** | ***1*** | ***950*** | ***50*** |
| ***2*** | ***100*** | ***1*** | ***900*** | ***100*** |
| ***3*** | ***200*** | ***1*** | ***800*** | ***200*** |
| ***4*** | ***300*** | ***1*** | ***700*** | ***300*** |
| ***5*** | ***400*** | ***1*** | ***600*** | ***400*** |

De cada uno de los estándares de calibración tomar 50 µL para servir en la placa de Elisa de 96 pozos, y completar a 200 µL por pozo, utilizando la solución diluyente.

### *8.2 LINEALIDAD*

#### *8.2.1 Preparación de Curva de Calibración de estándares de Carbamazepina con diferentes medios de disolución.*

***8.2.1.1.1 Solución buffer fosfato de pH 6,8****:* Tomar 50 mL de una solución de fosfato de potasio monobásico al 0,2M y adicionar 22,4 mL de una solución de hidróxido de sodio al 0,2M. Posteriormente, llevar a volumen con agua tipo I y verificar pH 6,8 ± 0,2.

***8.2.1.1.2 Solución diluyente Buffer 6,8/Metanol 60:40:*** Tomar 40 mL de metanol grado HPLC y mezclar con 60 mL de la solución buffer de pH 6,8.

***8.2.1.1.3 Solución patrón de carbamazepina 1000 ppm con solución diluyente****:* Pesar 10 mg de CBZ ER y disolver en 10 mL de la solución diluyente, utilizar un vortex para agitación y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Utilizar tubo falcon para este procedimiento.

***8.2.1.1.4 Preparación de estándares de calibración****:* A partir de la solución patrón de 1000 ppm de CBZ preparar estándares de calibración en tubos eppendorf de 1,5 mL, según la tabla 1, presentada anteriormente.

De cada uno de los estándares de calibración tomar 50 µL para servir en la placa de Elisa de 96 pozos, y completar a 200 µL por pozo, utilizando la solución diluyente.

***8.2.1.2 Medio de disolución Buffer pH 1,2:*** Tomar 25 mL de la solución de KCl y agregar a un matraz aforado de 100 mL, agregar 0,703 mL de HCl 37% y completar a 100 mL con agua desionizada. Agitar y verificar el pH 1,2 ± 0,2.

***8.2.1.2.1 Preparación de Solución de Cloruro de Potasio (KCl):*** En un matraz aforado de 50 mL pesar 745,5 mg de KCl y aforar con agua tipo desionizada.

***8.2.1.2.2 Solución Patrón de CBZ 1000 ppm con medio de disolución buffer pH 1,2:*** Pesar 10 mg de CBZ ER y disolver en 10 mL del medio de disolución buffer pH 1,2; utilizar un vortex para agitación y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Utilizar tubo falcon para este procedimiento.

***8.2.1.2.3 Preparación de estándares de calibración:*** A partir de la solución patrón de 1000 ppm de CBZ preparar estándares de calibración en tubos eppendorf de 1,5 mL, según la tabla según la tabla 1, presentada anteriormente.

De cada uno de los estándares de calibración tomar 50 µL para servir en la placa de Elisa de 96 pozos, y completar a 200 µL por pozo, utilizando el medio de disolución buffer pH 1,2.

***8.2.1.3 Medio de disolución Buffer pH 4,5:*** Pesar 0,299 g de acetato de sodio trihidratado, agregarlo al matraz aforado de 100 mL que contenga agua, después agregar 1,4 mL de ácido acético 2N y completar a 100 mL con agua. Agitar y verificar el pH 4,5 ± 0,2.

***8.2.1.3.1 Preparación de ácido acético 2N:*** En un matraz de 50 mL agregar 5,8 mL de ácido acético glacial a una cantidad suficiente de agua desionizada para obtener 50 mL, después de enfriar a temperatura ambiente.

***8.2.1.3.2 Solución Patrón de CBZ 1000 ppm con medio de disolución buffer pH 4,5:*** Pesar 10 mg de CBZ ER y disolver en 10 mL del medio de disolución buffer pH 4,5; utilizar un vortex para agitación y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Utilizar tubo falcon para este procedimiento.

***8.2.1.3.3 Preparación de estándares de calibración:*** A partir de la solución patrón de 1000 ppm de CBZ preparar estándares de calibración en tubos eppendorf de 1,5 mL, según la tabla 1, presentada anteriormente

De cada uno de los estándares de calibración tomar 50 µL para servir en la placa de Elisa de 96 pozos, y completar a 200 µL por pozo, utilizando el medio de disolución buffer pH 4,5.

***Medio de disolución Buffer pH 7,4:*** Tomar 25 mL de la solución de fosfato monobásico de potasio 0,2M y adicionar en un matraz aforado de 100 mL, agregar 0,1564 g de Hidróxido de sodio y completar el volumen con agua desionizada. Agitar y verificar el pH 7,4 ± 0,2.

***8.2.1.3.4 Preparación de fosfato monobásico de potasio 0,2M:*** Pesar 1,361 g de Fosfato monobásico de potasio y agregar a un matraz aforado de 50 mL, después completar el volumen con agua desionizada.

***8.2.1.3.5 Solución Patrón de CBZ 1000 ppm con medio de disolución buffer pH 6,8:*** Pesar 10 mg de CBZ ER y disolver en 10 mL del medio de disolución buffer pH 6,8; utilizar un vortex para agitación y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Utilizar tubo falcon para este procedimiento.

***8.2.1.3.6 Preparación de estándares de calibración:*** A partir de la solución patrón de 1000 ppm de CBZ preparar estándares de calibración en tubos eppendorf de 1,5 mL, según la tabla 1, presentada anteriormente:

De cada uno de los estándares de calibración tomar 50 µL para servir en la placa de Elisa de 96 pozos, y completar a 200 µL por pozo, utilizando el medio de disolución buffer pH 7,4.

***8.2.1.4 Agua:***

***8.2.1.4.1 Solución Patrón de CBZ 1000 ppm con agua:*** Pesar 10 mg de CBZ ER y disolver en 10 mL agua; utilizar un vortex para agitación y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Utilizar tubo falcon para este procedimiento.

***8.2.1.4.2 Preparación de estándares de calibración:*** A partir de la solución patrón de 1000 ppm de CBZ preparar estándares de calibración en tubos eppendorf de 1,5 mL, según la tabla 1, presentada anteriormente.

De cada uno de los estándares de calibración tomar 50 µL para servir en la placa de Elisa de 96 pozos, y completar a 200 µL por pozo, utilizando agua.

Construir las curvas de calibración utilizando el instrumento lector de microplacas, Synergy H1, usando la solución correspondiente (medio de disolución o solución diluyente) como blanco o concentración cero, y leyendo la absorbancia de cada estándar a una longitud de onda de 285 nm.

Se deben preparar tres curvas de calibración con el medio diluyente y una curva de calibración por cada uno de los medios de disolución, incluyendo el agua. Cada curva debe tener un coeficiente de determinación R2, superior a 0,995 para ser utilizada en la cuantificación de muestras de concentración desconocida.

***8.3 PRECISIÓN***

**8.3.1** ***Preparación de la muestra:*** Tomar 6 tabletas de CBZ 200 mg, liberación retardada y pesar cada una por separado y sacar el promedio del peso de las 6 tabletas. Macerar las tabletas y realizar el siguiente cálculo:

$$10\ mL\ medio\ x\ \frac{333{,}33\ mg\ CBZ}{1000\ mL}\ x\ \frac{peso\ promedio\ de\ las\ tabletas\ (mg)}{200\ mg\ CBZ} = mg\ de\ Tableta \qquad \text{(Ec. 1)}$$

Pesar los mg de tableta de CBZ macerada necesarios para obtener una concentración de 333,33 ppm de carbamazepina en un volumen de 10 mL de solución diluyente, que corresponde a la concentración esperada como el 150% de la concentración que se obtiene al disolver una tableta de 200 mg de Carbamazepina en 900 mL de medio de disolución.

A partir de la muestra de 150% preparada anteriormente, se toman 667 µL y se completa a 1 mL con la solución diluyente, con el fin de obtener una concentración del 100 % correspondiente a 222,22 ppm. Posteriormente, de la misma muestra de 150% se toman 333 µL y se completa con solución diluyente hasta 1 mL, con el fin de obtener el 50% de la concentración que corresponde a 111,11 ppm de CBZ.

Para abarcar la precisión del sistema instrumental, del método y la precisión intermedia se seguirá el procedimiento de acuerdo al tabla 2, presentada a continuación:

**Tabla 2**. Modelo de lectura de muestras de CBZ para precisión.

| Nivel | Día 1 | | Día 2 | | Día 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Analista 1 | Analista 2 | Analista 1 | Analista 2 | Analista 1 | Analista 2 |
| 50% | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces |
| | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces |
| | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces |
| 100% | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces |
| | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces |
| | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces |
| 150% | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces | Rep 1: 6 veces |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces | Rep 2: 6 veces |
| | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces | Rep 3: 6 veces |

**8.3.2** ***Precisión del sistema instrumental***: Se evidencia a partir de las 6 repeticiones que se realizan a cada una de las muestras. Se determinará el coeficiente de variación que presentan las mediciones.

**8.3.3** ***Precisión del método***: Se evidencia a partir de las muestras realizadas por el mismo analista durante los 3 días. Se determinará el coeficiente de variación que presentan estas mediciones.

**8.3.4** ***Precisión intermedia****:* Se evalúa mediante las variaciones internas del laboratorio, como los días de muestreo, y los analistas. Se determina el coeficiente de variación de las mediciones realizadas por el analista 1 y 2 en los diferentes días de análisis.

**Nota**: No se evaluará la precisión en términos de reproducibilidad debido a que no hay ensayos realizados por otros laboratorios.

### *8.4 ESPECIFICIDAD O SELECTIVIDAD*

**8.4.1** ***Preparación de solución estándar (CBZ ER):*** Pesar 10 mg de CBZ ER y disolver en 10 mL de la solución diluyente Buffer pH 6,8/ Metanol 60:40 ; utilizar un vortex para agitación y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Utilizar tubo falcon para este procedimiento.

A partir de esta solución estándar de CBZ que tiene concentración de 1000 ppm, se toman 222 µL y se llevan a 1 mL con la solución diluyente en un tubo Eppendorf de 1,5 mL. Posteriormente, se mezclan con el vortex durante 30 segundos y se toman 50 µL del tubo Eppendorf, se lleva al plato Eliza de 96 pozos y se completa a 200 µL con la solución diluyente.

**8.4.2** ***Preparación de Blancos:*** Se toman 200 µL de cada uno de los medios, correspondientes a solución diluyente Buffer pH 6,8/Metanol 60:40, agua, Buffer pH 1,2, Buffer pH 4,5 y Buffer pH 7,4. y se llevan al plato Eliza de 96 pozos.

**8.4.3** ***Preparación de la muestra:*** A partir de la ecuación 1, mostrada anteriormente, se toma la cantidad necesaria de CBZ macerada para obtener una concentración de 222,22 ppm de CBZ en 10 mL de cada uno de los medios de disolución, incluyendo la solución diluyente Buffer pH 6,8/Metanol 60:40, diluir bien las muestras y filtrar estas soluciones con un filtro para jeringa de 0,2 µm de diámetro de poro y posteriormente, tomar 50 µL de cada una de las muestras

preparadas y llevar a un plato Eliza de 96 pozos. Completar con el medio de disolución correspondiente.

Una vez preparados los blancos, el estándar y las muestras se llevará el plato Eliza al lector de platos y se realiza un barrido de absorbancias desde 230 – 300 nm, con el fin de identificar la longitud de onda de máxima absorbancia de la CBZ en cada uno de los medios y las posibles interferencias que se puedan presentar.

### *8.5 EXACTITUD*

**8.5.1** ***Preparación de las muestras:*** Para evaluar el parámetro de exactitud de la metodología analítica se realizan las siguientes ecuaciones:

$$10\ mL\ medio\ x\ \frac{111{,}11\ mg\ CBZ}{1000\ mL}\ x\ \frac{peso\ promedio\ de\ las\ tabletas\ (mg)}{200\ mg\ CBZ} = mg\ de\ Tableta \quad \text{(Ec 2)}$$

Con la ecuación 2, se calcula la cantidad necesaria de carbamazepina macerada para obtener una concentración de 111,11 ppm correspondiente al 50% de 200 mg de CBZ en medio de disolución.

$$10\ mL\ medio\ x\ \frac{222{,}22\ mg\ CBZ}{1000\ mL}\ x\ \frac{peso\ promedio\ de\ las\ tabletas\ (mg)}{200\ mg\ CBZ} = mg\ de\ Tableta \quad \text{(Ec 3)}$$

Con la ecuación 3, se calcula la cantidad necesaria de carbamazepina macerada para obtener una concentración de 222,22 ppm correspondiente al 100%.

$$10\ mL\ medio\ x\ \frac{333{,}33\ mg\ CBZ}{1000\ mL}\ x\ \frac{peso\ promedio\ de\ las\ tabletas\ (mg)}{200\ mg\ CBZ} = mg\ de\ Tableta \quad \text{(Ec 4)}$$

Con la ecuación 4, se calcula la cantidad necesaria de carbamazepina macerada para obtener una concentración de 333,33 ppm correspondiente al 150%.

Se pesan las cantidades de CBZ macerada, calculadas anteriormente y se llevan a 10 mL con la solución diluyente Buffer 6,8/Metanol 60:40. Y se realizan las mediciones de acuerdo a la tabla 3, mostrada a continuación:

**Tabla 3**. Modelo de lectura de muestras para Exactitud.

| Nivel | Analista 1 |
|---|---|
| 50% | Rep 1: 3 veces |
| | Rep 2: 3 veces |
| | Rep 3: 3 veces |
| 100% | Rep 1: 3 veces |

| | |
|---|---|
| | Rep 2: 3 veces |
| | Rep 3: 3 veces |
| 150% | Rep 1: 3 veces |
| | Rep 2: 3 veces |
| | Rep 3: 3 veces |

Se determina el porcentaje de recuperación de las lecturas y debe estar dentro del rango de 97% - 103% para decir que el método es exacto.

### *8.6 LIMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN*

**8.6.1** ***Solución patrón de carbamazepina 100 ppm con solución diluyente:*** Pesar 1 mg de CBZ ER y disolver en 10 mL de la solución diluyente, utilizar un vortex para agitación y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Utilizar tubo falcon para este procedimiento.

***Preparación de la curva:*** A partir de la solución patrón de CBZ 100 ppm con solución diluyente preparar estándares de calibración en tubos Eppendorf de 1,5 mL, según la tabla presentada a continuación:

**Tabla 4.** Concentración de estándares de calibración para límite de determinación y cuantificación.

| *Nº Muestra* | *Concentración estándares (ppm)* | *Volumen final (ml)* | *Volumen adicional de medio (µL)* | *Volumen de Solución patrón (µL)* |
|---|---|---|---|---|
| *1* | *0* | *1* | *1000* | *0* |
| *2* | *5* | *1* | *950* | *50* |
| *3* | *10* | *1* | *900* | *100* |
| *4* | *25* | *1* | *750* | *250* |
| *5* | *50* | *1* | *500* | *500* |

Tomar 50 µL de cada una de las soluciones y servir en el plato Eliza de 96 pozos, completar a 200 µL con solución diluyente buffer pH 6,8/Metanol 60:40. Y leer las absorbancias en el equipo lector de microplacas. Realizará el procedimiento 6 veces.

## 9 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos durante los ensayos realizados, se tiene en cuenta los siguientes criterios de aceptación:

| PARÁMETRO EVALUADO | CRITERIO DE ACEPTACIÓN | |
|---|---|---|
| **LINEALIDAD** | Se determinará por medio de la ecuación de la recta de regresión, la gráfica de linealidad, el coeficiente de determinación ($r^2$), y el coeficiente de variación (r), la varianza residual y el ANOVA. | |
| | **ACEPTA:** Los resultados estadísticos indican que el método cumple el parámetro de linealidad. | |
| | **RECHAZA:** El método no es lineal. | |
| **PRECISIÓN** | **PRECISIÓN DEL SISTEMA** | El %CV de las 6 determinaciones de la muestra 100% no es mayor a 2.0%. |
| | **PRECISIÓN DEL METODO** | Se acepta como preciso el instrumento sí el CV es menor o igual a 2%. |
| | **PRECISIÓN INTERMEDIA** | El %CV de las 12 determinaciones de la muestra 100% para cada analista no es mayor a 2,0%. |
| **ESPECIFICIDAD** | Los picos de absorbancia de los buffer, la solución diluyente no tienen interferencia con el pico de carbamazepina. La muestra generará el mismo pico del estándar de carbamazepina y presentarán concentraciones similares. | |
| | **ACEPTA:** Los resultados de los criterios de aceptación son selectivos, entonces el método tiene capacidad de discriminar la presencia de carbamazepina respecto a interferencias que pudieran presentarse | |
| | **RECHAZA:** Los resultados no son selectivos entonces, el método no es selectivo. No tiene capacidad de discriminar la presencia de CBZ respecto a otras interferencias. | |
| **EXACTITUD** | El Promedio de porcentajes de recuperación a cada nivel no son menores a 90% y no mayores a 107%. El %CV de las Recuperaciones a cada nivel no es mayor a 2,0%. | |
| **LÍMITE DE DETECCIÓN (LD) Y CUANTIFICACIÓN (LC)** | Se evalúa mediante la expresión: $$C_l = \frac{K * S_{bl}}{b}$$ $C_L$: Concentración de analito en el límite de cuantificación o detección. K: Constante que usualmente se considera igual a 10 para el LC e igual a 3 para el LD. $S_{bt}$: Desviación estándar correspondiente a la señal del blanco o | |

| | |
|---|---|
| | placebo<br><br>b: Pendiente de la curva de calibrado obtenida al representar la respuesta del método frente a la concentración del analito. El rango de esta recta tiene que ser cercano en concentraciones a los niveles de límite de cuantificación. |

## 10 RESULTADOS

Los datos primarios se registraron en el cuaderno de laboratorio y en la plantilla de Microsoft Excel donde se almacenaron estos datos. Al final de este documento podrá encontrar los resultados y discusión de los mismos.

## 11 RECOMENDACIONES

Para la realización esta verificación es necesario tener en cuenta:

- Ser muy cuidadoso con el manejo de las micropipetas, debido a que cualquier variación podría afectar los resultados de la lectura.
- Ser preciso al pesar el estándar o la muestra en la balanza análitica, debido a que esto también puede causar variación en los resultados.

## 12 REFERENCIAS


BioTek. (s.f.). *Lector de Absorbancia ELx800*. Recuperado el 29 de Octubre de 2016, de BioTek: http://www.biotek.es/es/products/microplate_detection/elx800_absorbance_microplate_reader.html?tab=overview

*Carbamazepina*. (s.f.). Recuperado el 3 de Septiembre de 2016, de Facmed: http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Carbamazepina.htm

*Definición de Metodo*. (s.f.). Recuperado el 5 de Septiembre de 2016, de Significados: http://www.significados.com/metodo/

*¿Qué es una curva de calibración?* (s.f.). Recuperado el 8 de Septiembre de 2016, de Curiosoando: https://curiosoando.com/que-es-una-curva-de-calibracion

Espectrofotometría, F. d. (s.f.). Recuperado el 6 de Septiembre de 2016, de http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358005/Fundamentos_de_espectrofotometria.pdf

Espectrofotometría. (s.f.). *Academia.* Recuperado el 2 de Noviembre de 2016

AEFI. (2001). *Validación de métodos analíticos .* España.

AEFI. (2001). *Validación de métodos analíticos.* España.

FDA. U.S. Food and Drugs Administration. (Agosto de 1997). *Guía para la industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata.* Recuperado el 8 de Septiembre de 2016, de http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm200707.htm

ICH. *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)* (Vol. 4).

U.S Pharmacopeial Convention Inc. Validación de métodos analíticos. En *USP 39/NF 34.* Rockville, Estados Unidos.

U.S Pharmacopeial Convention Inc. (2016). Carbamazepina, Tabletas de Liberación Prolongada. En *USP39/NF34* (pág. 3191). Rockville, Estados Unidos.

**Anexo 2.** Procedimiento operativo estándar para manejo de la plantilla de Excel que contiene los modelos cinéticos de liberación de fármacos.

| | PROCEDIMIENTO | NUMERO: |
|---|---|---|
| UNIVERSIDAD ICESI | **PROCEDIMIENTO PARA UTILIZAR LA PLANTILLA DE MODELOS CINÉTICOS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS** | PÁGINAS: 65 de 68 |
| | | FECHA DE EMISIÓN: 28-NOVIEMBRE-2016 |

| **REALIZADO POR:** | **REVISADO POR:** | **APROBADO POR:** |
|---|---|---|
| NOMBRE: María Jimena Tascón | NOMBRE: Giovanni Rojas | NOMBRE: Giovanni Rojas – Claudia Patricia Marín. |
| FIRMA: J. Tascón | FIRMA: | FIRMA: |
| Cargo: Estudiante de Química Farmacéutica | Cargo: Director de Proyecto de Grado | Cargo: Directores de proyecto de grado |
| FECHA: 10/NOV/2016 | FECHA: | FECHA: 11/NOV/2015 |

## 1. OBJETIVO

**1.1.** Describir el procedimiento a seguir para utilizar la plantilla de Excel que contiene los modelos cinéticos de liberación de fármacos.

## 2. ALCANCE

**2.1.** Este documento está dirigido al personal del Laboratorio de Instrumentación Química de la Universidad Icesi.

## 3. RESPONSABILIDAD Y AUTORIDAD

**3.1.** El analista debe seguir paso a paso las instrucciones detalladas en el procedimiento para emitir un resultado.

**3.2.** El Jefe de LIQ tiene la autoridad para verificar que este procedimiento se cumpla y emitir el concepto final para que el resultado sea reportado.

## 4. DEFINICIONES

**4.1.** Modelos cinéticos de liberación de fármacos: brindan información útil relacionada con el mecanismo mediante el cual ocurre el proceso de liberación. Para esto es necesario elegir el modelo matemático adecuado que se ajuste a los datos obtenidos en el perfil de disolución del sistema y se debe tener en cuenta que la cinética de liberación varía dependiendo de los componentes de la formulación del medicamento.

## 5. MATERIALES Y EQUIPOS

### 5.1. ELEMENTOS DE HIGIENE Y SEGURIDAD PERSONAL

No aplica.

### 5.2. EQUIPOS Y ELEMENTOS

| EQUIPOS |
|---|
| Computador que posea el programa de Microsoft Excel |

| MATERIALES |
|---|
| No aplica |

| SOLUCIONES |
|---|
| No aplica |

| REACTIVOS |
|---|
| No aplica |

## 1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

### 1.1. CONSIDERACIONES GENERALES

**1.1.1.** Se deben tener los datos de concentración vs. tiempo de los perfiles de disolución del medicamento o la forma farmacéutica sólida que se quiere analizar.

**1.1.2.** No importa que metodología analítica utilizó para cuantificar las muestras de los perfiles de disolución, siempre y cuando se encuentren en valores de porcentaje y minutos.

### 1.2. PROCEDIMIENTO PARA HALLAR LOS MODELOS CINÉTICOS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PLANTILLA DE EXCEL.

*Introducción de los resultados de concentración y tiempo a la hoja de cálculo:*

***1.2.1.*** Después de realizar los perfiles de disolución y determinar la cantidad de fármaco disuelto en el medio de disolución diríjase a la hoja 1, de la plantilla, titulada como “General”.

***1.2.2.*** Llene con los datos generales del experimento que está realizando, desde la F6 a F9 con el fin de tener mayor organización en los resultados.

***1.2.3.*** La tabla 1 está conectada directamente a la hoja de cálculo 2, titulada como "Tabla 1" y así sucesivamente en el caso de todas las tablas que se muestran en la hoja general.

***1.2.4.*** Llene los datos de la tabla 1, incluyendo el medio de disolución que utilizó, los tiempos de muestreo y el porcentaje disuelto de fármaco correspondiente a cada tiempo.

***1.2.5.*** Realice el mismo procedimiento en las demás tablas si tiene más resultados de perfiles de disolución.

*Análisis de los modelos cinéticos de liberación de fármacos.*

***1.2.6.*** Una vez haya terminado de llenar la tabla 1, diríjase a la hoja titulada con el nombre de la tabla.

***1.2.7.*** En esta hoja podrá observar 6 modelos cinéticos de liberación de fármacos.

***1.2.8.*** Lo que usted debe observar es el R2 de cada uno de los modelos, en los dos medicamentos que se estén analizando.

***1.2.9.*** El R2 más cercano a 1, corresponde al del modelo cinético de liberación de fármacos al que se ajusta su referencia de tableta.

***1.2.10.*** Un valor alto de k, es una confirmación del R2.

## 2. DISTRIBUCION

El presente documento se distribuye según los responsables definidos.

## 3. REFERENCIAS

No aplica.

## 9. ANEXOS

No Aplica.

## 10. HISTORIA DE CAMBIOS

No Aplica.

**Anexo 3.** Preparación de medios de disolución.

Se preparó 6 L de cada uno de los medios de disolución a tres niveles de pH, como se muestra a continuación:

1. *Solución amortiguadora pH 1,2.*

Reactivos: Cloruro de Potasio (KCl), Ácido Clorhídrico al 37% (HCl), Agua desionizada.

- Preparación de solución de Cloruro de Potasio (1,5 L): Se pesaron en una balanza analítica 22,36 g de KCl y se completó a un volumen de 1,5 L con agua desionizada.

Se tomó 1,5 L de solución de KCl, se adicionaron 42,18 mL de HCl al 37% y 4,45 L de agua desionizada. Se verificó que el pH estuviera en 1,2 ± 0,2.

2. *Solución amortiguadora pH 4,5.*

Reactivos: Acetato de Sodio trihidratado, Ácido Acético glacial, Agua desionizada.

- Preparación de Ácido Acético 2N (90 mL): Se midieron 10,44 mL de ácido acético glacial y se completaron a 90 mL con agua desionizada.

Se pesaron 17,94 g de acetato de sodio trihidratado, se completó a 1 L con agua desionizada para disolverlo. Se le adicionaron 84 mL de ácido acético 2N y 4,92 L de agua desionizada. Se verificó que el pH fuera 4,5 ± 0,2.

3. *Solución amortiguadora pH 7,4.*

Reactivos: Fosfato monobásico de Potasio, Hidróxido de Sodio (NaOH), Agua desionizada.

- Preparación de solución de fosfato monobásico de potasio 0,2 M(1,5 L): Se pesaron 40,8 g de fosfato monobásico de potasio y se completó a 1,5 L con agua desionizada.

Se tomaron 1,5 L de la solución de fosfato monobásico de potasio 0,2M, se adicionó 1 L de agua, después se agregaron 9,38 g de NaOH y se completó a 6 L con agua desionizada. Se verificó que el pH estuviera en 4,5 ± 0,2.

Los medios fueron preparados inmediatamente antes de realizar los perfiles de disolución respectivos.