

# CAPITULO 10

## LA PRUEBA DE DISOLUCIÓN

*María Esperanza Ruiz*

### Introducción

La evaluación de la disolución tiene aproximadamente un siglo de desarrollo. Sin embargo, en las últimas décadas ha suscitado mayor interés, especialmente por su aplicación al estudio de productos medicamentosos sólidos, en los que el proceso de disolución se encuentra relacionado con la biodisponibilidad del fármaco en el organismo.

Para que una molécula con determinada actividad intrínseca pueda convertirse en un fármaco, debe ser capaz de alcanzar su lugar de acción en el organismo. En el caso de fármacos formulados para su administración oral, el proceso de absorción dependerá de su disolución o solubilización bajo condiciones fisiológicas y de su permeabilidad a través de la membrana de las células del tracto digestivo. Por otro lado, si además se trata de una forma farmacéutica sólida, deberá ser liberado de ella antes de disolverse.

En consecuencia, la velocidad a la que aquellos principios activos poco solubles en agua se disuelven en el tracto gastrointestinal a partir de la forma farmacéutica se correlaciona con su velocidad de absorción sistémica. Es por ello que el ensayo de disolución es la prueba *in vitro* de elección para estudiar el comportamiento que tendrán los medicamentos *in vivo*, y se ha convertido en un requisito farmacopeico y regulatorio para la evaluación de formas farmacéuticas. Si bien inicialmente se aplicaba exclusivamente a formulaciones sólidas, con el tiempo se ha expandido más allá de los comprimidos y las cápsulas, para abarcar también a los productos de liberación modificada, productos transdérmicos, suspensiones orales, etcétera.

Por lo tanto, es la relación existente entre la disolución de un medicamento y su posterior desempeño *in vivo* el motivo de la relevancia de la prueba de disolución, ya que, con ciertas limitaciones, la misma puede emplearse como elemento predictivo de la biodisponibilidad *in vivo* del fármaco. La FDA define la biodisponibilidad (BD) como la "cantidad y velocidad a la cual el principio activo es absorbido desde un producto farmacéutico y queda disponible en el sitio de acción". Sin embargo, debido a que para la mayoría de los principios activos no es posible conocer nunca su concentración en el sitio de acción, se ha propuesto otra definición según la cual la BD es la "cantidad relativa del medicamento que ha accedido a la circulación general después de su administración, y velocidad a la cual se ha producido dicho acceso". Esta última definición ha sido adoptada por la autoridad sanitaria de nuestro país entre otras, y constituye tanto el fundamento de la determinación práctica de la BD como de su estrecha relación con el ensayo de disolución *in vitro*.

Asimismo, el ensayo de disolución posee otras y muy variadas aplicaciones, las que serán tratadas al final de este capítulo. Entre las principales podemos mencionar su empleo en el control de calidad de medicamentos, para la evaluación de la uniformidad entre lotes, en la etapa de pre-formulación, en estudios de estabilidad y de equivalencia farmacéutica, entre otros.

Por último, para que los resultados de disolución sean comparables y reproducibles, el ensayo debe realizarse según las recomendaciones dadas en la Farmacopea Argentina (FA) y asegurando que el equipo cumple las medidas indicadas en el Capítulo General sobre Ensayo de Disolución (320) de la FA. Se trata de un ensayo complejo donde entran en juego muchas variables, las que deben enmarcarse en los principios de las GLP.

## Leyes que rigen la disolución de un sólido

La disolución se define como la transferencia de masa desde un sólido al medio de disolución o solvente que lo rodea. Es una propiedad dinámica que se modifica en el tiempo y que explica el proceso por medio del cual se puede

obtener una mezcla homogénea de un sólido o un líquido en un solvente. Fisicoquímicamente, puede representarse como el proceso inverso a la cristalización, lo que macroscópicamente corresponde a la desintegración de la estructura cristalina bajo la acción del disolvente que la rodea.

En 1897 Noyes y Whitney publicaron el artículo *“Rate of dissolution of solid substances in their own solution”*, el que se convirtió en una de las primeras referencias a la evaluación de la disolución. En dicho artículo, los autores sugieren que la velocidad de disolución ( $dC/dt$ ) es limitada por una capa estanca de solución saturada que se forma instantáneamente alrededor de las partículas del sólido y a partir de la cual las moléculas difunden al seno de la solución (ecuación 1). Luego, en 1904 Nernst y Brunner establecieron la relación entre la velocidad de disolución y el coeficiente de difusión ( $D$ ), mediante una ecuación derivada de la de Noyes-Whitney por la aplicación de la ley de difusión de Fick (ecuación 2). Las ecuaciones correspondientes son las siguientes:

$$\frac{dC}{dt} = k \cdot (C_s - C) \quad (1)$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{Vh} \cdot (C_s - C) \quad (2)$$

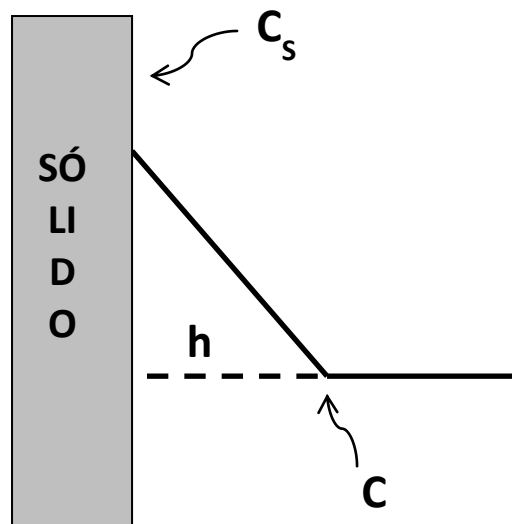
En las ecuaciones anteriores,  $dC/dt$  representa la velocidad de disolución de la droga;  $k$  es una constante;  $C_s$  es la concentración de la droga en la capa estanca (concentración de saturación);  $C$  es la concentración en el seno de la solución;  $S$  es el área superficial del sólido;  $D$  es el coeficiente de difusión,  $V$  es el volumen de solución y  $h$  es el espesor de la capa estanca.

En 1931 Hixson y Crowell expresaron el área superficial ( $S$ , ecuación 2) en función de la masa  $m$ . Considerando partículas esféricas, se tiene que  $S$  es proporcional a  $m^{2/3}$  y eso permite la aplicación de los cálculos a la disolución de partículas compactas. Haciendo los cálculos correspondientes e integrando luego, se obtiene una ecuación que relaciona al tiempo con la raíz cúbica de la masa (ecuación 3). Cuando las concentraciones disueltas son pequeñas y por

lo tanto la diferencia ( $C_s - C$ ) puede aproximarse constante, esta ecuación se puede expresar como:

$$w_0^{1/3} - w^{1/3} = k_2 \cdot t \quad (3)$$

Las tres ecuaciones anteriores pueden ser consideradas como diferentes expresiones del “modelo de la capa de difusión”. Es decir, este modelo sería la herramienta empleada para explicar físicamente el proceso de disolución, de la que luego se derivan las diferentes ecuaciones. En todos los casos, la etapa limitante es la difusión de las moléculas a través de la capa estanca de líquido (de espesor  $h$ ) alrededor de la superficie sólida.



**Figura 1.** Esquema de la disolución de una partícula esférica en un flujo laminar que permita suponer la existencia de una capa de líquido estanca de espesor uniforme  $h$  adsorbida alrededor de cada partícula.  $C_s$  es la concentración de la droga en la capa estanca (concentración de saturación) y  $C$  es la concentración en el seno de la solución

El modelo anterior, si bien fue uno de los más aplicados y desarrollados, no fue el único propuesto. El modelo de la barrera interfacial, propuesto inicialmente por Wilderman en 1909, postulaba que la etapa limitante del proceso de disolución era el transporte a través de la interfaz (en lugar de la difusión a través de la capa estanca) debido al elevado valor de energía de activación para el mismo. En 1951 Danckwerts propone otra teoría llamada de

“renovación de superficie”, que suponía la existencia de conjuntos o “paquetes” macroscópicos de disolvente que se desplazan hacia el sólido, y seguidamente, por un simple proceso de difusión, cada “paquete” absorbe soluto y luego es reemplazado inmediatamente por otro fresco, generándose así un ciclo de disolución continuo.

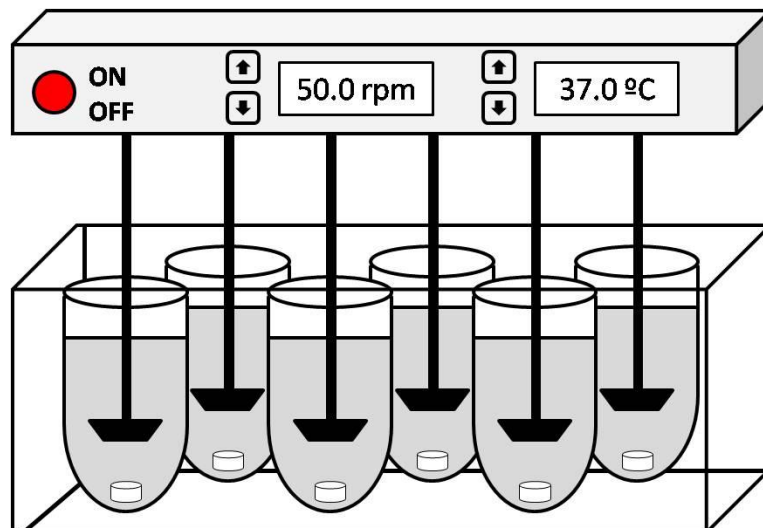
A pesar de lo discutido hasta aquí, no existe actualmente una única teoría que logre explicar satisfactoriamente el comportamiento de disolución de los sólidos. Y si tenemos en cuenta que en el caso de productos farmacéuticos la situación es más compleja ya que no suelen tratarse de sólidos puros sino de mezclas de componentes (activo + excipientes), la situación es aún más desfavorable. Sin embargo, las teorías expuestas resultan útiles para analizar, por ejemplo, la influencia que tendrán distintos factores experimentales sobre la velocidad de disolución (agitación, área superficial).

### **De Noyes-Whitney a la actualidad**

A pesar de los avances en el estudio de la disolución *in vitro* hasta aquí descriptos, los mismos pertenecían al campo de la ingeniería química, mientras que para las ciencias farmacéuticas la importancia de este fenómeno no fue reconocida de manera generalizada hasta el comienzo de los años 50. En 1930 comenzaron a aparecer experimentos de disolución bajo la forma de correlaciones *in vitro-in vivo*, y en 1934 fue la primera vez que un libro oficial, la farmacopea Helvética de Suiza, incluyó el test de desintegración para comprimidos, que se realizaba en agua a 37 °C con agitación constante. Sin embargo, recién en 1950 dicho test se convirtió en oficial para la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 14).

El primer test oficial de disolución para formas sólidas de dosificación fue incorporado en la USP 18 (1970). Luego, debido al creciente interés en los tópicos de disolución y absorción gastrointestinal, se produjo una explosión en el número de monografías con requerimientos de disolución en las siguientes ediciones de la USP/NF, y a partir de allí también comenzaron a aparecer los

primero equipos de disolución o “disolutores”, los que hasta el día de hoy consisten en un baño de agua con control de temperatura donde se sumergen seis vasos que contienen el medio de disolución y el producto a ensayar, agitados a velocidad variable (Figura 2). Recién en 1985 se publicó un capítulo general llamado “Drug Release” en la USP 21. Para el año 1990, había 23 monografías para formas farmacéuticas de liberación modificada en USP 22-NF 18, y en 1997 aparecen las guías de la FDA para disolución de formas sólidas orales (de liberación inmediata, modificada y prolongada) que aún permanecen vigentes.



**Figura 2.** Esquema de un equipo de disolución. Los vasos que contienen el medio donde se va a disolver el principio activo (al menos seis) se sumergen en un baño de agua con control de temperatura y se agitan a la velocidad deseada (50 rpm, por ejemplo) mediante un vástago central (en el esquema, con forma de paleta).

## Factores que influyen en la velocidad de disolución

Dada la complejidad del proceso de disolución, son numerosos los factores que pueden modificar la velocidad a la que se produce. Estos factores pueden clasificarse en:

## A) Factores que dependen del medio de disolución

Son factores experimentales, variables críticas a definir durante los ensayos.

### *Agitación*

De acuerdo con la teoría de Nernst y Brünner, el espesor de la capa líquida que rodea a las partículas es inversamente proporcional a la velocidad de agitación. Por lo tanto, si aumenta la intensidad de la agitación, disminuye el espesor del film, favoreciendo la difusión de las moléculas al seno de la solución.

Se han desarrollado otros modelos más complejos para explicar la relación entre la velocidad de la disolución y la intensidad de la agitación, sobre todo en los casos donde no se puede suponer flujo laminar. Pero en todos los casos, la relación entre estas variables es directa: mayor disolución a mayor agitación.

### *Temperatura*

Según la ley de Le Chatellier, un proceso endotérmico es favorecido por el aumento de temperatura: como la mayoría de los sólidos presentan calores de disolución positivos, el aumento de temperatura favorece su solubilidad y velocidad de disolución.

Por otro lado, la ecuación de Nernst-Brunner (ecuación 2) muestra la relación directamente proporcional entre velocidad de disolución y coeficiente de difusión de una molécula que, acorde a la ecuación de Stokes-Einstein, aumenta con la temperatura (ecuación 4):

$$D = \frac{RT}{6\pi\eta rN} \quad (4)$$

En la ecuación anterior, D: coeficiente de difusión; R: constante de los gases, T: temperatura (°K);  $\eta$ : viscosidad; r: radio de la partícula y N: número de Avogadro.

### *Composición del medio de disolución*

El **pH** es importante en todos los productos de carácter iónico, ya que la solubilidad de un electrolito varía en función del pH. Para un ácido débil:

$$C_s = C_0 + [A^-] \quad (5)$$

Donde  $C_0$  es la solubilidad intrínseca del ácido no disociado y  $C_s$  la solubilidad total. Por lo tanto la velocidad de disolución sería:

$$\text{Para un ácido débil:} \quad \frac{dm}{dt} = K \cdot C_0 \left( 1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right) \quad (6)$$

$$\text{Para una base débil:} \quad \frac{dm}{dt} = K \cdot C_0 \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right) \quad (7)$$

A partir de las expresiones anteriores puede verse que la velocidad de disolución de un ácido aumenta si se incrementa el pH, mientras que para las bases débiles sucede lo contrario.

Por otro lado, la ecuación 4 muestra también que el coeficiente de difusión de una molécula es inversamente proporcional a la **viscosidad** del medio, por lo tanto a mayor viscosidad del medio, menor velocidad de disolución.

En cuanto a las **sales presentes en el medio de disolución**, éstas pueden actuar por dos mecanismos, “salting in” (aumentan la solubilidad, por ejemplo la urea) o “salting out” (disminuyen la solubilidad al hidratarse a expensas del agua libre, ejemplo NaCl).

Otro factor que puede influir es la **tensión superficial**. Los agentes tensioactivos provocan una disminución de la tensión superficial y contribuyen así a aumentar la velocidad de disolución de un sólido mediante tres mecanismos principales:

- i) Pueden *mejorar la humectación de las partículas*, es decir, favorecer el contacto entre éstas y el disolvente y así aumentar la superficie libre para el ataque por el líquido disolvente.
- ii) Pueden aumentar la solubilidad a través de un mecanismo de *falsas emulsiones o soluciones*. A partir de una cierta concentración, cuando el tensioactivo ya no se encuentra en solución verdadera sino que se encuentra en forma micelar, el poder solvente frente a las sustancias hidrófobas aumenta.



iii) Los agentes tensioactivos también pueden influir sobre los *fenómenos de difusión* asociados a los procesos de disolución.

## **B) Factores que dependen del sólido a disolver**

Son factores no modificables durante los ensayos.

### *Solubilidad*

Es un parámetro termodinámico que representa la concentración de la solución de un fármaco en equilibrio con el soluto. Según la ecuación de Noyes-Whitney (ecuación 1) la solubilidad ( $C_s$ ) es el factor más importante en la velocidad de disolución. Varios factores pueden modificar la solubilidad de una sustancia sólida:

La solubilidad depende principalmente de la **naturaleza química del sólido**. Los electrolitos se disuelven fácilmente en agua, mientras que en el caso de sustancias que contienen a la vez grupos polares y no polares, su solubilidad en agua depende de la relación entre esos grupos. Por otro lado, en el caso de sustancias ácidas o básicas, también se puede modificar la solubilidad según se utilice la forma libre (genéricamente denominada “forma base”) o una sal.

El **polimorfismo**, es decir la capacidad de una sustancia de cristalizar en más de un sistema, también incluye en la solubilidad, ya que cada polimorfo posee propiedades físicas diferentes, entre ellas el punto de fusión, la solubilidad y la velocidad de disolución.

En algunos casos, la presencia de **impurezas** o trazas de impurezas, no detectables por los métodos químicos que suelen ser aceptados por las farmacopeas, pueden inhibir la disolución.

### *Área superficial*

Depende principalmente del tamaño de las partículas, aunque también de su porosidad y forma geométrica. Al disminuir el tamaño de las partículas aumenta su área superficial  $S$ , y con ella la velocidad de disolución (ver ecuación 2).

### C) Factores tecnológicos y de formulación:

Al igual que los anteriores, estos factores no pueden modificarse durante el ensayo, sino solamente en la etapa de preformulación. Tanto los procedimientos de fabricación (mezcla, granulación, fuerza de compresión) como los excipientes que acompañan a los principios activos en la formulación pueden influir de alguna manera en el proceso de disolución.

#### *Excipientes*

Los **diluyentes**, que se emplean para dar volumen a un comprimido (ej: sacarosa, lactosa), pueden generar comprimidos demasiado consistentes, con menores velocidades de disolución. También se han indicado efectos de adsorción y complejación de algunos fármacos con diluyentes.

Por el contrario, los **desintegrantes** contribuyen a la disgregación rápida en el fluido gastrointestinal (ej. almidones), y por lo tanto suelen aumentar la cantidad de desintegrante aumenta la velocidad de disolución.

Los excipientes que se utilizan para dar resistencia mecánica a los comprimidos (también llamados **aglutinantes**) en general producen un aumento en el tiempo de desintegración y, por lo tanto, la disminución de la velocidad de disolución. Los **lubricantes**, por su parte, también disminuyen la velocidad de disolución. Dichos excipientes, que se incluyen en la mezcla para evitar la adherencia y mejorar la fluidez de los polvos, en porcentaje elevado impiden la humectación de las partículas, disminuyendo así su disolución (ej: estearato de magnesio)

#### *Método de granulación*

De acuerdo con el método empleado pueden obtenerse comprimidos de diversa resistencia mecánica, la cual influye en la velocidad de disolución del principio activo.

### *Fuerza de compresión*

Durante la compresión es difícil mantener las características granulométricas de los principios activos. La velocidad de disolución, según algunos autores, aumenta con el aumento de la fuerza de compresión, llega a un máximo y luego decrece hasta un nivel constante. Otros autores consideran que cuando se aplica una fuerza débil, las partículas se aglomeran, y disminuyen la velocidad de disolución, pero si aumenta la fuerza llega un punto en que las partículas se rompen, y la velocidad de disolución aumenta hasta un máximo para luego disminuir.

### *Envejecimiento*

La velocidad de disolución de comprimidos envejecidos puede ser menor que la de los recién elaborados. Este efecto se puede deber a diferentes causas, como la presencia de ciertos excipientes que aumentan la dureza de los comprimidos en el tiempo, o al efecto del agua residual del granulado.

## Objetivos y aplicaciones del ensayo de disolución

Las pruebas de disolución como hoy las conocemos son métodos de control *in vitro* que permiten evaluar las características de liberación de un fármaco desde su forma farmacéutica a un medio de disolución apropiado, en condiciones experimentales cuidadosamente estandarizadas. La evaluación de la disolución es un ensayo con numerosos objetivos y aplicaciones. Dentro de las aplicaciones rutinarias del ensayo de disolución podemos citar:

- Evaluar materias primas. Si se emplea una materia prima con pobres características de disolución, muy posiblemente se verá afectado el comportamiento de disolución del producto terminado. Para realizar este ensayo se coloca la droga pura en una cápsula de gelatina.
- Servir como guía para el desarrollo de formas farmacéuticas orales durante la etapa de preformulación.

- Monitorear la calidad, consistencia y estabilidad de formulaciones en el tiempo, ya que debe asegurarse que los parámetros iniciales de disolución se mantengan durante toda la vida útil del producto. En este sentido, la prueba de disolución se convierte en un indicador de del proceso de biocaducidad.
- Determinar la uniformidad entre diferentes lotes producidos de un mismo medicamento.

Las anteriores, sin embargo, no son las únicas aplicaciones de este ensayo. La valiosa información que se obtiene al evaluar el desempeño de disolución de los productos farmacéuticos, como así también la estrecha relación entre dicha información y el posterior desempeño *in vivo* del producto, dan lugar a otra serie de aplicaciones biofarmacéuticas de estos ensayos, las cuales serán brevemente discutidas al final de este capítulo.

## Equipos de disolución

La USP codifica siete aparatos de disolución:

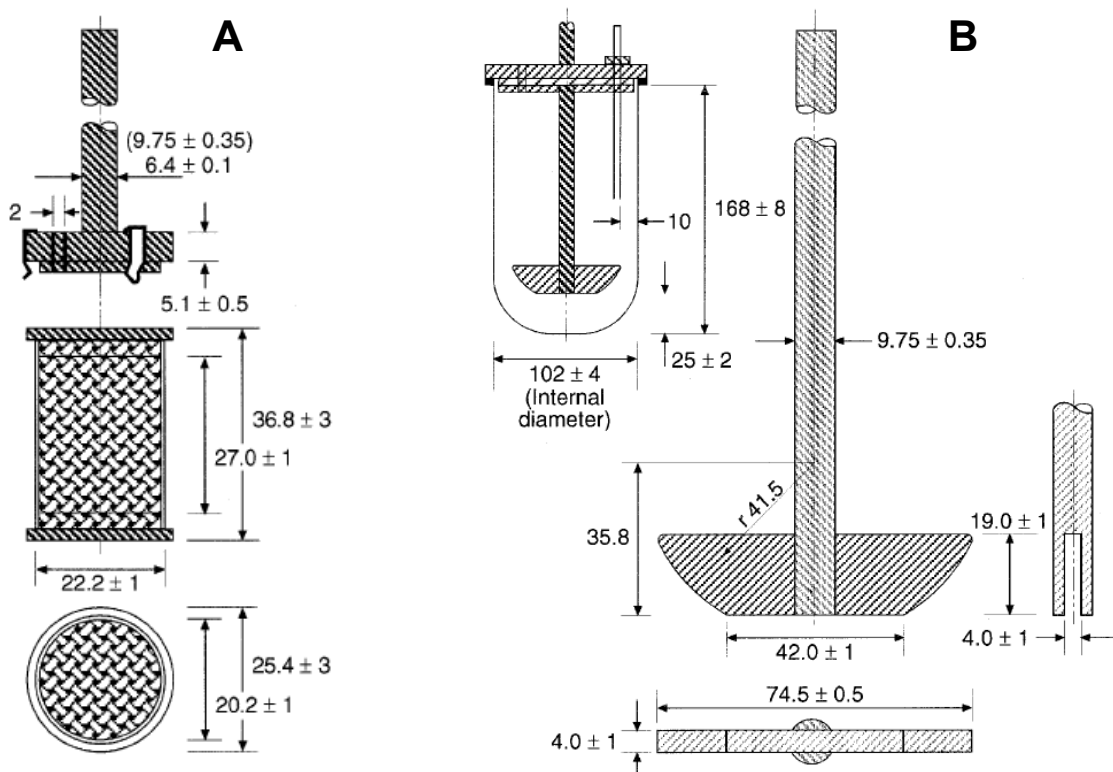
- 1) Canastillo
- 2) Paleta rotatoria
- 3) Cilindro reciprocante
- 4) Celda de flujo
- 5) Paleta sobre disco
- 6) Cilindro rotatorio
- 7) Disco reciprocante

Los más usados son los equipos 1 y 2, y son los únicos incluidos en la FA VII Ed. Ambos equipos constan de un baño de agua en el que se sumergen al menos seis vasos de 1 litro de capacidad, los que contienen el medio de disolución. Durante el ensayo, la temperatura de dicho baño se fija en  $37 \pm 0,5$  °C (productos de administración oral). Por otro lado, los equipos poseen un motor giratorio (velocidad variable entre 25 a 200 rpm, aproximadamente) que acciona elementos de agitación o vástagos sumergidos en el centro de cada

vaso. Los aparatos 1 y 2 se diferencian entre sí por el método de agitación del medio de disolución contenido en los vasos:

**Aparato 1:** en el extremo inferior del vástago se coloca un canastillo de acero inoxidable con malla de 0,12 mm de abertura, en el que se coloca la muestra a analizar y se sumerge en el medio de disolución hasta 2,5 cm del fondo (Figura 3A).

**Aparato 2:** utiliza vástagos cuyo extremo inferior tiene forma de paleta (de acero inoxidable o recubierta de un polímero adecuado, Figura 3B). La muestra se introduce directamente en los vasos y por gravedad se deposita en el fondo.



**Figura 3.** Esquemas de los equipos (las medidas son en mm). A: vástago correspondiente al aparato 1 o canastillo, B: aparato 2 o paleta.

### Control del equipo – Calibración

- Comprobar la rectitud del eje, visualmente y/o con una regla.

- Examinar el revestimiento de la paleta o del canastillo para detectar posibles grietas en el mismo.
- Comprobar que la paleta o el canastillo posean las dimensiones y distancias al eje especificadas.
- Montar la paleta o el canastillo en el equipo y comprobar tanto que su posición sea centrada como que la distancia al fondo del recipiente sea la adecuada ( $25 \pm 2$  mm).
- Controlar el aparato para garantizar la velocidad de rotación, la que debe mantenerse dentro de  $\pm 4\%$  del valor especificado durante todo el ensayo.
- Controlar el nivel de vibración de todo el aparato (con un medidor de vibraciones), y eliminar cualquier fuente de vibración posible.
- Inspeccionar el estado de limpieza (como así también la presencia de grietas o rayas) de la paleta o el canastillo, y de todas las partes del equipo que vayan a estar en contacto con el medio de disolución.
- Calibrar periódicamente el sistema con calibradores adecuados, lo que también se denomina *calibración química*.

Respecto a este último punto, la USP ofrece dos tipos de calibradores: tabletas o comprimidos desintegrables (Prednisona 50 mg) y no desintegrables (Ácido Salicílico 300 mg), los cuales poseen tiempos fijos de disolución bajo determinadas condiciones experimentales.

## Test de disolución

Para el control de calidad de productos orales de liberación inmediata las farmacopeas indican, en las monografías correspondientes, las condiciones en las que se debe realizar el *test* de disolución. Bajo dichas condiciones experimentales, se ensayan seis unidades del producto en cuestión y, a un tiempo que también se encuentra especificado en dicha monografía, se toma una muestra de cada vaso y se cuantifica el principio activo disuelto, el cual debe haber superado cierto porcentaje de disolución para cumplir con dicho

test. Por lo tanto, se trata de un ensayo a un único tiempo, que sólo permite determinar si el producto evaluado cumple con los requisitos de disolución establecidos en la monografía correspondiente.

Las condiciones que se encuentran en el apartado correspondiente al test de disolución en la monografía individual de un producto son las siguientes:

Equipo: típicamente, aparatos 1 o 2.

Temperatura: para productos de administración oral, siempre es  $37 \pm 0,5$  °C

Medio de disolución: se indica qué medio utilizar y qué volumen del mismo. Si el medio es una solución buffer, se debe ajustar el pH hasta  $\pm 0,05$  unidades del valor establecido.

Agitación: expresada en rpm

Especificación o tolerancia: se expresa como dos datos. Un valor Q, que es un %Disuelto (sobre valor declarado –SVD-) a un tiempo dato  $t$  (tiempo al que se debe alcanzar dicho %D).

Tipo de muestreo: en la mayoría de los casos el muestreo es *individual*, es decir se toma una muestra de cada vaso y se analizan por separado, obteniéndose seis valores de %Disuelto (%D). Pero en algunos casos las farmacopeas pueden requerir muestreo *unificado*, según el cual las seis muestras obtenidas se juntan para formar una única muestra que se analiza.

Método analítico: empleado para la determinación del %D en las alícuotas extraídas del equipo de disolución.

Por lo tanto, la realización experimental de un test de disolución consiste en los siguientes pasos:

- \* Preparación del equipo: se coloca el volumen correspondiente de medio de disolución, previamente desgasificado, en los vasos del equipo, se inicia la agitación a la velocidad estipulada en la monografía correspondiente y se espera a que el sistema alcance la temperatura del ensayo,  $37 \pm 0,5$  °C.
- \* Se pesan los comprimidos o unidades de dosificación a ensayar
- \* Una vez alcanzada la temperatura, se coloca cada comprimido en un vaso, a la vez que se comienza a cronometrar el tiempo. Generalmente se deja

una diferencia de algunos segundos entre vaso y vaso, de manera de tener tiempo de muestrear posteriormente.

- \* Al cumplirse el tiempo establecido en la monografía, se extrae una muestra de cada vaso (con la diferencia de tiempo con que se colocaron los comprimidos) de aproximadamente 5 o 10 ml (exactamente medidos).

***Las muestras se deben tomar a una altura equivalente a la mitad de distancia entre la superficie del medio de disolución y el borde superior de la paleta o canastilla, y a no menos de 10 mm de la pared del vaso.***

- \* Se deben separar todas las partículas sólidas que pudieran estar presentes en las muestras, por lo que las mismas deben ser filtradas o centrifugadas. En el caso de filtración, se debe verificar previamente (durante la validación) que el sistema de filtración no adsorba al principio activo ni libere sustancia al filtrado.
- \* Se analizan las muestras así tratadas por un método adecuado (UV, HPLC). Pueden analizarse directamente o previa dilución de las mismas en el medio de disolución
- \* Se calcula el porcentaje disuelto en cada una de ellas por comparación de los resultados obtenidos respecto a una solución de referencia preparada el mismo día de trabajo.

Lo anterior es válido para la mayoría de los productos orales de liberación inmediata (LI). Sin embargo, existe otro tipo de productos que requieren condiciones de disolución especiales:

- Productos de liberación prolongada (LP): sus monografías poseen la misma información que en el caso de LI, excepto que se debe muestrear a 3, 4 o 5 tiempos, y para cada uno se especifica un valor de Q o rango de Q.
- Productos de liberación retardada con cubierta entérica (LR): las farmacopeas codifican dos ensayos posibles (*Ensayos A o B*), ambos con una etapa ácida inicial (2 hs en HCl) y etapa buffer de 45 min. La diferencia



entre ambos ensayos consiste en la forma en que se produce el cambio de un medio al otro.

### **Criterios de Aceptación**

En el caso de productos LI, y a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos se cumplen si la cantidad de principio activo disuelto al tiempo especificado cumple el criterio de aceptación (Tabla 1). En caso que los resultados no se ajusten al límite especificado en E1, continuar el ensayo con E2 y si no cumple con la exigencia de E2, proseguir hasta E3. El valor de Q que se encuentra en la tabla es el especificado en la monografía correspondiente al producto en cuestión. Los valores de 5, 15 y 25% en la Tabla 1 corresponden a porcentajes SVD, de modo que estos valores y Q están en los mismos términos.

| <b>Etapa</b> | <b>Unidades ensayadas</b> | <b>Criterios de aceptación</b>  |
|--------------|---------------------------|---|
| E1           | 6                         | Cada unidad no debe ser menor de $Q + 5\%$  |
| E2           | 6                         | El promedio de 12 unid.(E1 + E2) debe ser igual o mayor de Q y ninguna unidad menor de $Q-15\%$   |
| E3           | 12                        | El promedio de 24 unid.(E1 + E2+ E3) debe ser igual o mayor de Q, no más de 2 unidades menores de $Q-15\%$ y ninguna unidad menor de $Q-25\%$ |

*Tabla 1. Aceptación para muestreo individual de productos LI*

| <b>Etapa</b> | <b>Unidades ensayadas</b> | <b>Criterios de aceptación</b>                                     |
|--------------|---------------------------|--|
| E1           | 6                         | El promedio disuelto debe ser igual o mayor de $Q+10$              |
| E2           | 6                         | El promedio de 12 unid.(E1 + E2) debe ser igual o mayor de $Q+5\%$ |
| E3           | 12                        | El promedio de 24 unid.(E1 + E2+ E3) debe ser igual o mayor de Q   |

*Tabla 2. Aceptación para muestreo unificado de productos LI*

En el caso de productos LP, la monografía correspondiente especificaba 3, 4 o 5 tiempos de muestreo, con sus respectivos valores de Q o rangos de Q (generalmente, se especifican rangos para los tiempos iniciales e intermedios, y un valor único de Q para el tiempo final). Los requisitos se cumplen si la cantidad de principio activo disuelto a cada tiempo especificado cumple el criterio de aceptación (Tabla 2). Al igual que para productos LI, si los resultados no se ajusten al límite especificado en E1, se continúa con E2 y si no cumple con la exigencia de E2, hasta E3.

| Etap | Unidades ensayadas | Criterios de aceptación   |
|------|--------------------|---|
| E1   | 6                  | Ningún valor individual fuera de los rangos establecidos  |
| E2   | 6                  | El promedio de 12 unid. debe estar dentro del rango establecido, y ningún valor individual debe representar más del 10% fuera del rango. Al tiempo final, ningún valor debe estar más del 10% por debajo del límite establecido.  |
| E3   | 12                 | El promedio de 24 unid. debe estar dentro del rango establecido. No más de 2 unid deben representar más del 10% fuera del rango y ninguna unidad representa más del 20% fuera del rango. Al tiempo final, no más de 2 deben estar más del 10% por debajo del límite establecido y ninguna más del 20% por debajo de dicho límite. |

**Tabla 3.** Aceptación para productos LP

En el caso de productos LR, la monografía correspondiente especifica si debe realizarse el ensayo A o B, como así también la tolerancia para la etapa buffer del ensayo. Una vez realizado el ensayo completo, los requisitos se cumplen si, **durante la etapa ácida**, la cantidad de principio activo disuelto a cada tiempo especificado cumple el criterio de aceptación presentado en la Tabla 3. Para la **etapa buffer**, se aplican los mismos criterios que para productos LI (Tabla 1).

| <b>Etapa</b> | <b>Unidades ensayadas</b> | <b>Criterios de aceptación</b>  |
|--------------|---------------------------|---|
| E1           | 6                         | Ningún valor individual excede el 10% disuelto  |
| E2           | 6                         | El promedio de 12 unid.(E1 + E2) no es mayor del 10% disuelto y ninguna unidad individual es mayor al 25%     |
| E3           | 12                        | El promedio de 24 unid.(E1 + E2+ E3) no es mayor del 10% disuelto y ninguna unidad individual es mayor al 25% |

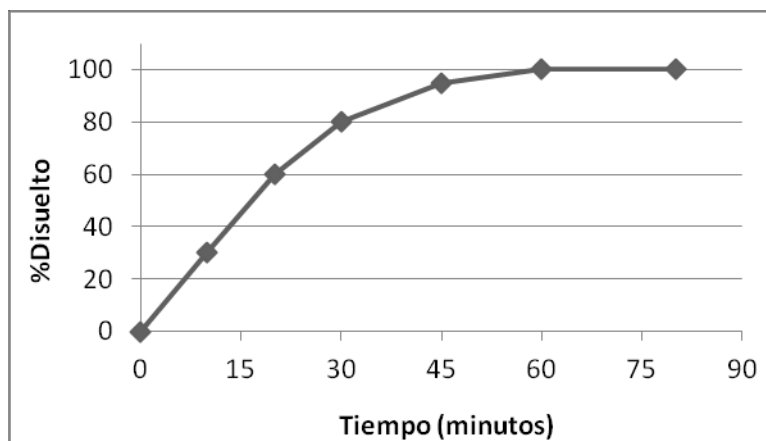
**Tabla 4.** Aceptación para la etapa ácida de productos LR

## Perfil de disolución

A pesar de que el test de disolución es el ensayo oficial codificado, una única determinación (único tiempo de muestreo) no permite caracterizar la forma farmacéutica, y por lo tanto resulta de interés evaluar y comparar *perfiles de disolución*: registros del %Disuelto (SVD) en función del tiempo. Además de los objetivos generales ya mencionados, la obtención de un perfil de disolución también permite:

- Determinar el orden cinético del proceso de disolución
- Determinar constantes de velocidad del proceso de disolución
- Detectar y cuantificar tiempos de latencia
- Determinar cambios en el proceso de disolución

Los perfiles de disolución se pueden llevar a cabo siguiendo las mismas condiciones experimentales establecidas para el *test de disolución* u otras diferentes, según sea el objetivo. La metodología a seguir es similar a la del test, con la diferencia de que se toman muestras a varios tiempos (por ejemplo, 5, 15, 30, 45 y 60 minutos) para poder obtener luego la curva de %D vs. tiempo (figura 4).



**Figura 4.** Perfil de disolución

Por otro lado, el muestreo puede hacerse con o sin reposición, según se reemplace o no el volumen extraído de cada vaso, a cada tiempo, por un volumen igual de medio fresco. En el caso de ser con reposición, es necesario que el equipo cuente con al menos 7 vasos, de manera de disolver las 6 unidades simultáneamente y tener medio fresco para reponer (en iguales condiciones de agitación y temperatura) en el séptimo vaso.

En cuanto a los cálculos, cuando se cuantifica la concentración del principio activo disuelto en cada vaso, se debe tener en cuenta que:

- Cuando se calculan los mg encontrados a un tiempo dado, debe sumarse la masa retirada en las alícuotas tomadas en los tiempos anteriores.
- Si se trata de un perfil sin reposición, los cálculos deben contemplar la disminución de volumen de los vasos por las sucesivas extracciones de muestras.

### **Comparación de perfiles de disolución**

Con el aumento de relevancia de los estudios de disolución *in vitro* de productos farmacéuticos, al punto de permitir reemplazar a los estudios *in vivo* en ciertas circunstancias, aumentó también la discusión acerca de los métodos

empleados para comparar dichos datos, como asimismo acerca de qué criterio de similitud aplicar.

En la década de los 90, aparecieron en la literatura científica numerosas propuestas de métodos útiles para la comparación de perfiles de disolución. Estos métodos pueden clasificarse en tres categorías:

- \* Métodos independientes del modelo
- \* Métodos estadísticos basados en ANAVA
- \* Métodos dependientes del modelo

#### *Métodos independientes del modelo*

Son aquellos que permiten comparar perfiles de disolución sin necesidad de ajustar los datos a un modelo o ecuación que los represente. Incluyen, entre otros, a los métodos matemáticos de cálculo de índices de diferencia/similitud, como los factores  $f_1$  y  $f_2$ , y también la comparación de parámetros obtenidos a partir de los perfiles, como el área bajo la curva (ABC) y/o la eficiencia de disolución (ED).

El más conocido de los métodos empleados para comparar perfiles de disolución, posiblemente por ser el método actualmente exigido por la mayoría de los agencias regulatorias de medicamentos, es el factor de similitud  $f_2$ :

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[ 1 + (1/n) \sum_{t=t_1}^{t_n} (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\} \quad (8)$$

Donde  $R_t$  y  $T_t$  son los %D promedio al tiempo  $t$ . Los mismos autores que desarrollaron el factor de similitud también desarrollaron el de diferencia,  $f_1$ :

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{t=t_1}^{t_n} (R_t - T_t)}{\sum_{t=t_1}^{t_n} R_t} \right\} \times 100 \quad (9)$$

Los perfiles se consideran *similares* si el valor del  $f_2$  entre ellos es mayor o igual a 50, y el  $f_1$  menor a 15. Requisitos para el cálculo del factor de similitud  $f_2$ :

- Los %D de los dos productos a comparar deben haber sido obtenidos bajo las mismas condiciones experimentales, y los tiempos de muestreos deben haber sido los mismos en ambos casos.
- Para el cálculo, se considerarán todos los valores por debajo y sólo uno por encima del 85% disuelto, como mínimo 3 tiempos sin considerar el cero.
- Para que puedan usarse los %D promedio, el coeficiente de variación (CV) del primer tiempo considerado debe ser menor al 20%, mientras que para los tiempos restantes debe ser menor al 10%.
- No es adecuado el uso del factor de similitud  $f_2$  en el caso de productos de rápida o muy rápida disolución (más del 85% disuelto en 15 minutos).

Otro método consiste en calcular el área bajo la curva (ABC), por el método de los trapecios por ejemplo, y/o la eficiencia de disolución (ED), dada por la ecuación 10:

$$ED = \frac{\int_{t_1}^{t_2} D(t) \cdot dt}{\%D_{max} \times (t_2 - t_1)} \times 100 = \frac{ABC_{0-T}}{\%D_{max} \times T} \times 100 \quad (10)$$

Donde  $\%D(t)$  es el porcentaje disuelto al tiempo  $t$ ,  $\%D_{max}$  es el máximo disuelto, correspondiente al último tiempo  $T$ , y  $ABC_{0-T}$  es el área bajo la curva desde cero a  $T$ . Una vez obtenidos los valores de ABC y ED para cada comprimido individual de las dos formulaciones que se desean comparar, se deben evaluar estadísticamente mediante un Análisis de Varianza (ANAVA), e incluso se puede calcular el intervalo de confianza del 90% para el cociente de medias (IC90%).

#### *Métodos estadísticos basados en ANAVA*

Estos métodos tratan al porcentaje disuelto como variable aleatoria, y la someten a un análisis de varianza tomando a la formulación como única variable de clase (monofactorial) y comparando tiempo a tiempo, o considerando a la formulación y el tiempo (bifactorial) como variables de clase o factores en forma simultánea, bajo la hipótesis nula de similitud.

Sin embargo, su aplicación no es estrictamente correcta ya que se viola la hipótesis de independencia debido a la correlación entre el %Disuelto y el tiempo. Y más allá de eso, estos métodos de comparación suelen resultar sobre-discriminantes, detectando diferencias “estadísticas” en lugar de “biofarmacéuticas” entre los perfiles que se están comparando.

### *Métodos dependientes del modelo*

Incluyen diferentes formas estadísticas de comparación de perfiles, con el denominador común de precisar, todas ellas, una etapa previa de modelado de los datos, de manera de ajustarlos a ecuaciones que describan su evolución temporal. El criterio de selección del modelo, así como la interpretación de sus parámetros son desventajas de estos métodos. Luego de ajustados los datos, éstos pueden compararse de diversas maneras, tales como la prueba  $T^2$  de Hotelling o mediante el método de “regiones de similitud” propuesto por Sathe y colaboradores.

Algunas de las ecuaciones matemáticas no-lineales más empleadas para el ajuste de datos fueron de disolución pueden verse en la Tabla 4 a continuación:

| <b>Modelo</b>   | <b>Ecuación</b>   |
|-----------------|---|
| Primer Orden    | $\%D(t) = \%D_{m\acute{a}x} \cdot [1 - \exp(-k \cdot t)]$   |
| <u>Gompertz</u> | $\%D(t) = \%D_{m\acute{a}x} \cdot \exp\{-a \cdot \exp[-b \cdot \log(t)]\}$                                      |
| Logístico       | $\%D(t) = \%D_{m\acute{a}x} \cdot \left\{ \frac{\exp[a+b \cdot \log(t)]}{1 + \exp[a+b \cdot \log(t)]} \right\}$ |
| <u>Weibull</u>  | $\%D(t) = \%D_{m\acute{a}x} \cdot \{1 - \exp[-a \cdot (t)^b]\}$   |

**Tabla 5.** Modelos matemáticos con sus respectivas ecuaciones empleados para el ajuste de los datos %Disuelto vs. tiempo.

A pesar de que se han postulado otros modelos matemáticos para ajustar los datos de %Disuelto vs. tiempo, los cuatro descriptos en la tabla anterior son los más utilizados por su mejor ajuste a datos provenientes de formas sólidas de liberación inmediata.

Para ajustar datos experimentales a una ecuación o modelo se trabaja con programas estadísticos adecuados (Systat, Infostat, etcétera), los que buscan de manera iterativa los valores de los parámetros de la ecuación que estamos ensayando que mejor ajustan a los datos experimentales. Luego, una vez que el programa arroja los valores de los parámetros de cada ecuación para el mismo conjunto de datos experimentales, se debe elegir entre ellas. Existen diferentes formas para ello, pero una muy sencilla e informativa consiste en realizar el test estadístico de *Lack of fit* (falta de ajuste) a los datos ajustados a los diferentes modelos, de manera de determinar estadísticamente si el ajuste es aceptable en todos los casos.

Por último, una vez seleccionada la ecuación a utilizar y calculados los parámetros de la misma para los dos productos que se desea comparar, dichos parámetros deben compararse estadísticamente. Para esto también existen diversas maneras, siempre pertenecientes a la estadística multivariada (estadístico  $T^2$  de Hotelling, método de regiones de similitud, etcétera), por tratarse de ecuaciones con al menos dos parámetros, que deben ser comparados simultáneamente.

## Otras aplicaciones del ensayo de disolución

### **Correlaciones *in vitro/in vivo***

Este tipo de correlaciones permiten predecir la absorción *in vivo* del principio activo a partir de los resultados obtenidos al realizar perfiles de disolución *in vitro*. De esa forma, se logran reducir costos y acelerar el desarrollo de productos farmacéuticos, además de evitar la realización de estudios de BD/BE en voluntarios humanos.



## **Establecer la similitud entre dos medicamentos**

- \* Entre productos conteniendo el mismo principio activo, en igual dosis y forma farmacéutica, pero provenientes de distintos laboratorios (es decir, potenciales *equivalentes farmacéuticos*).
- \* Productos del mismo productor que han sufrido algún cambio posterior a su aprobación: escalado, cambio de composición, de sitio de producción, de equipamiento, etc.

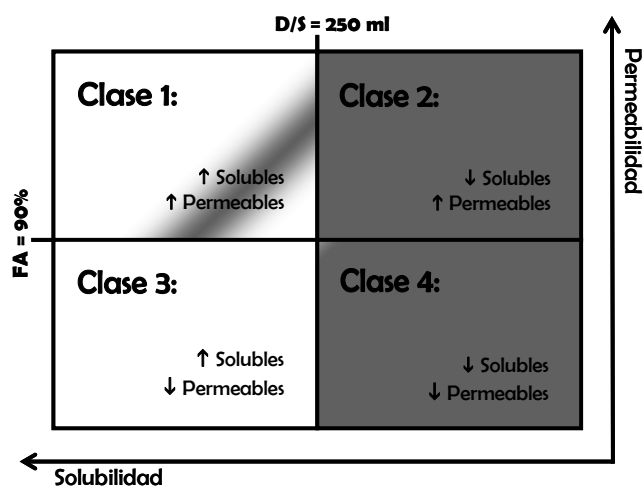
## **Sistema de clasificación biofarmacéutica (BCS): bioexenciones o *biowaivers***

De acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS) todas las drogas se encuadran en una de cuatro categorías (I, II, III o IV), según sean altamente solubles y altamente permeables, poco solubles y altamente permeables, muy solubles y poco permeables o poco solubles y poco permeables, respectivamente (Figura 4).

En el año 2000 surgió el concepto de “bioexenciones” para denominar a aquellos productos que podrían ser eximidos de realizar los estudios de BE *in vivo*. En su planteo original, las bioexenciones podían ser permitidas para aquellos productos sólidos de liberación inmediata, destinados a ser administrados por vía oral, conteniendo drogas pertenecientes a la clase I del BCS, si se cumplieran los siguientes requisitos: el fármaco no posee estrecho margen terapéutico y es estable en el tracto gastrointestinal, los excipientes no afectan la velocidad ni el grado de absorción, y el producto no ha sido diseñado para su absorción en la cavidad bucal. En esos casos, los perfiles de disolución *in vitro* podrían reemplazar a los estudios de BE *in vivo*.

La justificación de dicha propuesta consiste en que la liberación y disolución del principio activo en el medio acuoso gastrointestinal y su absorción a través de las membranas celulares hacia la circulación sistémica son procesos consecutivos, por lo que si el primero es más lento que el segundo (clases I y II

del BCS), la velocidad total del proceso quedará supeditada a la del primero. Se dice, en ese caso, que la liberación es el factor limitante de la absorción. Sin embargo, una intensa discusión se ha desarrollado recientemente acerca de la posibilidad de ampliar los criterios de elegibilidad de bioexenciones. En nuestro país, la Disp. 758/2009 establece los criterios para eximir de la realización de estudios de BE a determinados medicamentos sólidos orales de liberación inmediata: en base al BCS y en función de los resultados de ensayos de disolución, son candidatos a bioexenciones aquellos productos conteniendo principios activos considerados de riesgo intermedio (según la clasificación original establecida en la Disp. 3185/99) cuando los mismos pertenecen a las clases I o III del BCS.



**Figura 4.** Representación esquemática del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS).  
 FA: fracción absorbida. D/S: relación dosis/solubilidad

## Preguntas Orientadoras

1. ¿Por qué es importante el estudio de la disolución de los principios activos sólidos?
2. Principal modelo propuesto para explicar el proceso de disolución y ecuaciones derivadas.

3. ¿Logran dichas expresiones describir satisfactoriamente la disolución de medicamentos sólidos?
4. Factores que influyen sobre la velocidad de disolución. Clasificación, breve justificación del efecto de cada uno de ellos.
5. Diferencia entre test y perfil de disolución. Principales objetivos de cada uno.
6. ¿Por qué es importante realizar estos ensayos en forma normatizada, respetando las condiciones codificadas en las farmacopeas?
7. ¿Cuáles son los equipos de disolución que codifica la FA VII Ed? Descríbalos brevemente.
8. Principales métodos que existen para comparar perfiles de disolución. ¿Cuál es el más utilizado? Describa su forma de cálculo y análisis de los resultados.
9. Otras aplicaciones del estudio de la disolución de productos farmacéuticos. ¿Qué entiende por equivalentes farmacéuticos?
10. ¿Qué son las bioexenciones? ¿En qué se basan y cuál es su relación con el ensayo de disolución?

## Test de Autoevaluación

1. ¿Qué ensayo de calidad le realizaría a comprimidos para evaluar *in vitro* su biodisponibilidad?
  - (a) Ensayo de friabilidad
  - (b) Ensayo de uniformidad de dosis
  - (c) Ensayo de estabilidad
  - (d) Ensayo de disolución
2. El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, clasifica las drogas según:
  - (a) Su margen terapéutico
  - (b) Sus características de solubilidad y permeabilidad

- (c) Su velocidad de disolución
  - (d) Su acción farmacológica
3. Si un principio activo se considera perteneciente a la clase II del BCS, el factor limitante de su absorción será:
- (a) Su liberación de la forma farmacéutica
  - (b) Su solubilidad
  - (c) Su permeabilidad a través de las membranas biológicas.
  - (d) Todos los anteriores.
4. Si finalizado un ensayo de disolución los resultados obtenidos para los 6 comprimidos fueron 55, 62, 68, 75, 77 y 80 %D, y el valor de Q especificado en la monografía correspondiente era de 75%, ¿qué medidas tomaría ud. a continuación:
- (a) Aprobaría el lote por cumplir con el test de disolución en E1
  - (b) Ensayaría 6 comprimidos más para evaluar si cumple la E2 de dicho test
  - (c) Ensayaría directamente 18 comprimidos más para evaluar si cumple la E3.
  - (d) Descartaría el lote sin realizar más ensayos.
5. Si al comparar los perfiles de disolución de dos productos similares se obtiene que los mismos cumplen con el criterio de similitud del factor  $f_2$  (>50) pero al comparar estadísticamente sus ABC las mismas resultan diferentes, ¿cómo cree ud. que dichos productos resultaría si se ensayan *in vivo*?
- (a) Bioequivalentes
  - (b) Equivalentes en términos de cantidad pero no de velocidad
  - (c) Equivalentes en términos de velocidad pero no de cantidad
  - (d) Ninguna de las anteriores

## Bibliografía

1. Shargel L, Yu ABC. (1993) *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. Prentice-Hall International, 3rd ed: London, 625.
2. FDA/CDER. (2003) *Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products - General Considerations*.
3. ANMAT. (1999) *Requerimiento de Estudios de Bioequivalencia, Disposición 3185* (disponible en [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Legislacion/Medicamentos/Disposicion\\_ANMAT\\_3185-1999.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Legislacion/Medicamentos/Disposicion_ANMAT_3185-1999.pdf)).
4. EMEA/CPMP. (2001) *Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence*.
5. Cárcamo EC. (1981) *Cinética de Disolución de Medicamentos*. Santiago, Chile.
6. Dokoumetzidis A, Macheras P. (2006) *A century of dissolution research: from Noyes and Whitney to the biopharmaceutics classification system*. Int J Pharm. 321: 1-11.
7. FDA/CDER. (1997) *Guidance for Industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms*.
8. Arancibia A, Pezoa R, (1992) Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacológicas. *Biodisponibilidad de medicamentos: Simposio Internacional I*. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas, Santiago de Chile, 309 p.
9. FDA/CDER. (2000) *Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System*.
10. Sathe PM, Tsong Y, Shah VP. (1996) *In-vitro dissolution profile comparison: statistics and analysis, model dependent approach*. Pharm Res. 13: 1799-1803.

11. O'Hara T, Dunne A, Butler J, Devane J. (1998) *A review of methods used to compare dissolution profile data*. *Pharmaceutical Science & Technology Today* 1: 214-223.
12. Saranadasa H. (2001) *Defining similarity of dissolution profiles through Hotelling's T<sup>2</sup> statistic*. *Pharm Technol.* 25: 46-54.
13. Costa P, Sousa Lobo JM. (2001) *Modeling and comparison of dissolution profiles*. *Eur J Pharm Sci.* 13: 123-133.
14. Doménech Berrozpe J, Martínez Lanao J, Plá Delfina JM. (1997) *Biofarmacia y farmacocinética. Vol. 1, Farmacocinética*. Síntesis, Madrid, 446p.
15. Amidon GL, Lennernas H, Shah VP, Crison JR. (1995) *A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability*. *Pharm Res.* 12: 413-420.