

**Facultad de Farmacia  
Departamento de Farmacia y Tecnología  
Farmacéutica**



**VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA**

**OPTIMIZACIÓN DE MATRICES HIDRÓFILAS DE  
LIBERACIÓN SOSTENIDA: FACTORES CRÍTICOS Y  
EVALUACIÓN BIOFARMACÉUTICA**

**TESIS DOCTORAL**

**Cristina Maderuelo Martín**

**2013**





**VNiVERSIDAD  
D SALAMANCA**

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGIA FARMACEUTICA  
Avda. Campo Charro s/n. 37007 SALAMANCA  
Tlfo: (923) 294536; Fax: (923) 294515

**JOSÉ MARTÍNEZ LANAo, Catedrático del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Salamanca.**

**En calidad de director de la Tesis cuyo título es "Optimización de matrices hidrófilas de liberación sostenida: Factores críticos y evaluación biofarmacéutica" realizada por la Licenciada en Farmacia D<sup>a</sup> CRISTINA MADERUELO MARTÍN, considera finalizado el trabajo y autoriza su presentación a fin de que pueda ser juzgada por el Tribunal correspondiente.**

**Y para que así conste, firma la presente en Salamanca, a 3 de Septiembre de 2013.**

Fdo.: José Martínez Lanao



***A Ángel, a Miguel***

***A mis padres, y a mi hermano***



## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, mi más sincero agradecimiento a mi director de tesis, Dr. José Martínez Lanao por sus enseñanzas, paciencia, dedicación y apoyo incondicional, por los que siempre le estaré agradecida.

A todos los miembros del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica por su maravillosa acogida cuando llegué al departamento, su cariño demostrado en todos estos años y su confianza en mí en todo momento.

A Arancha, mi compañera, que nunca ha dudado en echarme una mano, que me ha dado aliento, apoyo, cariño y confianza a pesar de los malos momentos. Por cuidar de mí, enseñarme tanto, echarme una mano... o dos, y por su amistad.

A Jesús y a Pepe, por apoyarme a la hora de emprender este camino y animarme a seguir.

A Laboratorios USALA, por la infraestructura prestada y por el apoyo y comprensión que me han dado en estos años todos los que forman parte de esta estupenda “familia”.

Al resto de mis compañeros, todos y cada uno de vosotros. Qué importante es trabajar en una ambiente tan agradable, donde siempre hay una sonrisa. En especial, me gustaría mencionar a Carmen, Sheila, Glenda, M<sup>a</sup> José, Cheto e Hinojal porque de una u otra forma me han apoyado a lo largo de esta etapa. A Catharina, por su colaboración y su amistad.

A Julián, Pepe y Toñi, y en especial a Julián porque siempre ha estado ahí con su eficaz ayuda a la hora de hacer los temidos “papeles”.

A todos mis amigos. A Lucia por su colaboración con el inglés.

A Segundo y M<sup>a</sup> Paz, por su ayuda en este último empujón tan duro.

A mis abuelos, sobre todo a la abuela Consuelo, por su amor incondicional. A mis tíos y primos, y especialmente a Javier, por su granito de arena.

A mis padres, Eugenio y Encarna, y a mi hermano Pablo. Por este y por tantos motivos que merecen un agradecimiento enorme. Por vuestra ayuda, paciencia, comprensión, ánimo, cariño. Por estar a mi lado en este y cualquier otro momento de mi vida, sin reservas. Cualquier agradecimiento es insuficiente.

El más especial de los agradecimientos, a Ángel, por caminar conmigo de la mano desde el día que nos conocimos, los dos..., ahora los tres.

A Miguel, por sus sonrisas.





*Lo que sabemos es poco. Lo que no sabemos es inmenso.*  
Pierre-Simon Laplace



# **CAPÍTULO 1**

---

## **Introducción y objetivos**



El SIDA es una enfermedad causada por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), que ataca a las células del sistema inmunitario. El VIH sigue siendo uno de los agentes infecciosos causante de más muertes en el mundo: en los últimos 30 años se ha cobrado más de 25 millones de vidas. En 2011 se estimó que vivían en el mundo unos 34 millones de personas infectadas por este virus (OMS, 26 julio 2013) [1], de los que el 68 % viven en el África subsahariana.

En 2012 había en los países de desarrollo bajo o medio más de 9,7 millones de personas infectadas por el VIH que recibían tratamiento antirretroviral (TAR) [1].

Para el tratamiento, se dispone de dos familias de compuestos: los inhibidores de la transcriptasa inversa y los inhibidores de la proteasa, ambos dirigidos a enzimas específicas producidas por el VIH. Se trata de fármacos que controlan la proliferación del virus, reduciendo la carga viral y mejorando el sistema inmune del paciente, por lo que consiguen mejorar la calidad de vida de los individuos VIH positivos convirtiendo la enfermedad en crónica. El tratamiento antirretroviral con combinaciones de tres fármacos de estas dos familias constituye el tratamiento de inicio de elección de la infección crónica por el VIH [2]. Sin embargo, la no adherencia al tratamiento, incrementa de forma significativa el riesgo de enfermedades oportunistas o muerte por la falta de control de la replicación viral [3]

Se entiende por adherencia al tratamiento para los pacientes con infección por VIH a la “capacidad del paciente de implicarse correctamente en la elección, inicio y control del TAR, que permita mantener el cumplimiento riguroso del mismo con el objetivo de conseguir una adecuada supresión de la replicación viral” [4].

Un estudio de Patterson et al. evidenció grandes diferencias en la supresión viral con leves cambios en el nivel de cumplimiento del TAR. Así, el 81 % de los individuos VIH positivos con más del 95 % de adherencia consiguieron supresión viral completa, mientras que sólo la conseguían el 64 % de los que tenían una adherencia del 90-95 %, y el 30 % de los que alcanzaban menos del 80 % de la adherencia [5].

Los estudios realizados muestran que entre un 20 % y un 50 % de pacientes con TAR activo presentan una adherencia inadecuada al mismo [4]. Por ello, la falta de adherencia al TAR constituye un problema clínico que es necesario abordar. Hay distintos ángulos desde los que tratar esta cuestión y uno de ellos es la simplificación del tratamiento [6, 7]. Desde el punto de vista de la tecnología farmacéutica, esto se puede lograr desarrollando formulaciones de liberación sostenida de fármacos antirretrovirales.

El desarrollo de sistemas que retrasan la liberación de los fármacos una vez administrados, permite dirigirlos hacia el órgano o célula diana, conseguir velocidades de liberación que se ajustan a un objetivo concreto, lo que constituye el objetivo de esta tesis doctoral. Adicionalmente, este tipo de sistemas permite disminuir el número de administraciones diarias, mejorando el cumplimiento y minimizando los efectos secundarios de los fármacos.

De todos los sistemas de liberación sostenida, los sistemas matriciales hidrofílicos son de gran interés, y ampliamente utilizados, por ser uno de los más sencillos de

formular, con bajos costes de producción, buena industrialización y buena correlación *in vivo-in vitro* [8, 9].

Una matriz hidrofílica es una dispersión homogénea de fármaco en el seno de un entramado en el que uno o varios de los excipientes incorporados es un polímero hidrofílico que se hincha en contacto con el agua. Algunos ejemplos de polímeros hidrofílicos son los derivados de celulosa, los derivados del ácido acrílico, almidones modificados, o polímeros naturales como los carragenanos. La mayoría de las matrices hidrofílicas comercializadas se obtienen por compresión, por lo que en muchos de los casos se puede hablar de comprimidos matriciales.

Cuando las matrices entran en contacto con un medio acuoso, se hidratan por relajación de las cadenas del polímero, causando un aumento de su tamaño. Esto se traduce en la formación de una capa de gel a través de la que ocurren dos fenómenos de transporte: la entrada del medio acuoso hacia el interior y la salida del fármaco al exterior del sistema. Además pueden ocurrir fenómenos de erosión de la matriz.

La penetración del medio en la matriz origina la formación de los frentes de penetración, hinchamiento, difusión y disolución o erosión, así como de las correspondientes zonas de la matriz formadas con la entrada del medio al sistema [10-12]. Estos frentes y las zonas que delimitan, se pueden ver en la tabla 1.1.

ZONA 1	FRENTE	ZONA 2
Zona gelificada	Disolución/erosión	Medio de disolución
Matriz gelificada con fármaco disuelto	Difusión	Matriz con fármaco sólido sin disolver
Polímero hidratado	Hinchamiento	Polímero no hidratado
Polímero vítreo-hidratado	Penetración	Polímero vítreo-seco

**Tabla 1.1.** Relación de los frentes formados en una matriz con la entrada del medio y las distintas zonas que se originan

Los mecanismos por los que el fármaco es liberado de la matriz, son complejos e involucran procesos distintos: entrada del medio acuoso al interior de la matriz, hinchamiento de la matriz, disolución del fármaco en el medio, difusión del fármaco a través de la capa de gel y erosión de la matriz hinchada. En todos y cada uno de estos procesos influyen diversos factores relacionados con el fármaco, con el polímero y con el método de obtención de la matriz. El profundo conocimiento de estos factores es fundamental para conseguir modular la velocidad de liberación del fármaco y así alcanzar concentraciones en sangre dentro del margen terapéutico, durante el periodo de tiempo deseado.

Para caracterizar y predecir los procesos de liberación de fármacos se dispone de diversos modelos matemáticos. Los hay empíricos y mecanicistas, siendo estos últimos los más empleados por su correlación con los procesos reales que ocurren en el sistema [13]. Disponemos de ecuaciones que cuantifican los procesos de entrada del agua en las

matrices poliméricas, de hinchamiento y erosión del polímero o de difusión del fármaco [14]. Estos, junto a las ecuaciones que describen los procesos de disolución del fármaco en el medio [15], son de gran utilidad a la hora de entender los procesos involucrados en el control de la liberación del fármaco desde estos sistemas, para así poder formularlos con éxito. En los últimos años han surgido nuevos modelos que tienen en cuenta el movimiento de los distintos frentes [16] y modelos que tienen en cuenta la heterogeneidad del sistema [17].

Entre los factores críticos que condicionan la liberación del fármaco desde matrices hidrofílicas que están relacionados con el polímero se encuentra el peso molecular del mismo. La consistencia del gel determina la capacidad de erosión del polímero, así cuanto mayor es el peso molecular del polímero mayor es el grado de hinchamiento del mismo y menor es su capacidad de erosionar [18]. A pesar de ser un condicionante fundamental, el peso molecular del polímero por sí solo no es capaz de predecir la velocidad de liberación [19]. Este hecho ha sido demostrado mediante técnicas de resonancia magnética nuclear y técnicas gravimétricas en un estudio en el que se mide el impacto del peso molecular de chitosan [20].

Si bien la velocidad de liberación del fármaco está muy influenciada por la consistencia de la capa de gel, ésta a su vez, está condicionada por la velocidad de hidratación del polímero, lo que depende en gran medida de la naturaleza de los sustituyentes y el grado de sustitución del polímero. La estructura de los sustituyentes, si el grado y tipo de sustitución de las cadenas de polímero es uniforme y la homogeneidad de los sustituyentes del polímero son determinantes en la velocidad de hidratación. Estudios comparativos entre HPMC y goma xantana como polímeros retardantes ponen de relieve distintos comportamientos, dando como resultado perfiles diferentes de liberación. Esto es debido a las diferentes propiedades de hidratación de ambos polímeros. Por ello, el tipo de polímero empleado y por supuesto las mezclas o combinaciones de ellos, son otro factor a tener en cuenta en los procesos de desarrollo de este tipo de sistemas. Actualmente, la conjugación de dos polímeros formando los llamados copolímeros, son una línea de investigación interesante. Así, un estudio reciente que emplea un copolímero de HPMC y poliácridamida (PAM) ha sido evaluado *in vitro* como un vehículo potencial para la liberación controlada de ácido 5-amino salicílico (5-ASA) [21]. En este trabajo, se consigue controlar la liberación del fármaco, y disminuir la erosión. Se consigue además, que la velocidad de liberación de 5-ASA sea más rápida en la región del colon, lo que convierte a este copolímero en un componente interesante para desarrollar formulaciones de liberación colónica.

La amplia variedad de polímeros hidrofílicos y las múltiples combinaciones posibles a realizar entre ellos hacen que la formulación de sistemas matriciales sea un campo en continuo crecimiento.

Los factores comentados hasta ahora, peso molecular, sustituyentes y grado de sustitución del polímero, están profundamente relacionados con la viscosidad del polímero. Normalmente los polímeros de alto peso molecular y con alto grado de sustitución, aumentan la viscosidad de la solución del polímero en el medio, lo que se traduce en un aumento de la consistencia del gel resultante tras la entrada del medio en

la matriz. Así, la viscosidad del gel es uno de los parámetros principales que controla la liberación del fármaco y determina su mecanismo de liberación. Este hecho ha sido demostrado por numerosos estudios realizados con distintos tipos de polímeros [22-29]. Estudios recientes apuntan que la influencia de la viscosidad del polímero es determinante en los casos en que se ha superado el umbral de porcentaje de polímero necesario para la formación de una capa de gel consistente [30, 31]. Si este umbral no se supera, la porosidad de la matriz es independiente de la viscosidad de polímero y la capa de gel formada con la entrada del medio al sistema no es suficiente para ralentizar la salida del fármaco [31].

Esta misma teoría se ha desarrollado para el tamaño de partícula de polímero. En general, es sabido que la aparición de la capa de gel es más rápida cuanto más cercanas están las partículas unas de otras, es decir, cuanto más pequeño es su tamaño. Así, cuanto más rápido se forma el gel, más lenta es la liberación del fármaco. Sin embargo son muchos los autores que aseguran que el tamaño de partícula del polímero no es tan decisivo como cabía esperar [19, 32-35]. Parece que otros factores, como el porcentaje de polímero y su viscosidad son determinantes en el proceso de formación de la capa de gel, cobrando importancia el tamaño de partícula del polímero, solo en aquellos casos en los que la proporción de polímero no supera un determinado umbral, a partir del cual la capa de gel formada es sumamente consistente [30].

Por todo ello, se puede considerar, que el porcentaje de polímero resulta fundamental en la velocidad de liberación conseguida al formular matrices hidrofílicas. Es en los casos en los que se pretende formular matrices de fármacos muy solubles en agua, en los que el porcentaje de polímero pierde importancia. Se suele cumplir que, por encima de un porcentaje determinado de polímero la velocidad de liberación no disminuye. A pesar de ello, cuanto mayor es el porcentaje de polímero menor es la variabilidad en la cinética de liberación, ya que se minimiza el impacto que tienen en ella otros factores.

Un estudio que compara el efecto que produce sobre distintos grados de viscosidad de HPMC la concentración de iones del medio de disolución, pone de manifiesto que la fuerza iónica del medio solo repercute en la velocidad de liberación del fármaco en el caso de la K100LV, que presenta muy baja viscosidad ( $\sim 100$  mPa.s) [36]. Para grados de viscosidad mayor, tales como K4M, K15M y K100M (4.000, 15.000 y 100.000 mPa.s respectivamente), no ha resultado decisiva. Sin embargo, si lo ha sido para otro tipo de polímeros, como la goma xantana, pudiendo condicionar su capacidad de hinchamiento [22, 37].

Algunos polímeros, como quitosan y dextrano presentan un grado de hinchamiento sensible al pH [38]. Se trata de polímeros que presentan cambios bruscos en su naturaleza física como respuesta a diversos estímulos como son cambios en la temperatura, el pH o la fuerza iónica [39], lo que les convierte en sustancias sumamente interesantes para la liberación controlada de fármacos [40].

Tal y como se comenta anteriormente, en los casos que el fármaco es muy soluble en agua, la velocidad de entrada del medio en la matriz es el proceso limitante de la liberación del fármaco [41]. Por tanto, en estos casos, la importancia del polímero es



fundamental, ya que la entrada de agua al sistema depende en gran medida del peso molecular del mismo. En el caso concreto de la HPMC, a medida que aumenta el peso molecular, la velocidad de entrada del agua es más lenta. Las HPMC de alto peso molecular se hinchan muy rápidamente, y esa expansión rápida de las cadenas de polímero bloquea los poros a los que podría acceder el agua [27].

Los factores críticos en la liberación del fármaco desde matrices hidrofílicas que están relacionados con el fármaco son, el peso molecular, la solubilidad en agua, su tamaño de partícula y la dosis.

Fármacos con pesos moleculares bajos suelen difundir a través de la capa de gel con más facilidad que los que tienen pesos moleculares más altos [22].

Más estudiada que el peso molecular, ha sido la solubilidad del fármaco. Se cumple en general que los fármacos solubles en agua siguen un mecanismo de liberación basado en la difusión a través de la capa de gel, mientras que los fármacos insolubles en agua lo hacen principalmente por un mecanismo de erosión [42, 43]. Así, los fármacos insolubles en agua suelen presentar velocidades de liberación más lentas [44].

Análisis realizados para estudiar la relación entre el mecanismo de liberación de los fármacos desde matrices hidrofílicas y su solubilidad en agua [41], ponen de manifiesto que para los fármacos poco solubles en agua, la erosión de la matriz es el proceso limitante en la liberación del fármaco, ya que la velocidad de disolución es más lenta que la velocidad de erosión de la matriz. Este hecho ha sido probado recientemente empleando la técnica del infrarrojo cercano (NIR) para el caso de un fármaco con una solubilidad en agua de  $\sim 0,05$  mg/mL formulado en matrices de HPMC [45]. En el caso de los fármacos de alta solubilidad en agua ( $> 5$  mg/mL), la velocidad de disolución del fármaco es similar a la de la entrada del agua en el sistema. Por tanto, en este caso, la velocidad de entrada de agua es el proceso limitante en la liberación del fármaco.

También la solubilidad del fármaco está relacionada con la posición del frente de difusión en la capa de gel, ya que la cantidad de fármaco disuelto que hay en dicha capa tiene que ver con la distancia que hay entre los frentes de difusión y erosión [10, 46, 47].

Todo ello, queda recogido en un modelo propuesto por Siepmann et al. [48] en el que se tiene en cuenta, entre otras cosas, la difusión del agua en dirección radial y axial en matrices cilíndricas, por tratarse de fenómenos limitados por la solubilidad del fármaco y el movimiento de los frentes.

Otro factor relacionado con el fármaco que tiene gran importancia en la velocidad de liberación del mismo desde sistemas matriciales, es su tamaño de partícula. Un tamaño de partícula grande supone en general, tanto si el fármaco es altamente soluble en agua como si no, aumentos en la velocidad de disolución del fármaco. En el primer caso, esto es debido a que con la entrada del agua al sistema se forman canales que aumentan la porosidad de la matriz [49, 50]. En el segundo caso, es debido a que se incrementa la velocidad de erosión del sistema, que además es el principal mecanismo de liberación del fármaco [51].

No se puede olvidar la importancia que tiene la dosis de fármaco, ya que grandes cantidades del mismo suponen una reducción del porcentaje de polímero hidrofílico, lo

que conduce a una disminución de la consistencia de la capa de gel, y a una mayor velocidad de liberación del fármaco [52]. Grandes cantidades de fármaco potencian además la presencia del conocido efecto *burst* [53]. Todo esto ha sido recientemente demostrado en un estudio realizado por Kimber et. al. [54] mediante el método de los elementos discretos (DEM), que es un método numérico que permite simular el comportamiento mecánico de un sistema formado por un conjunto de partículas.

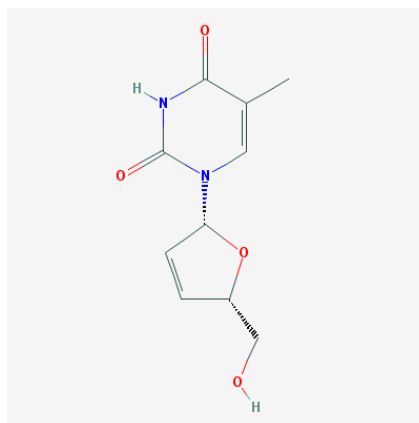
Un estudio reciente estudia las interacciones que se establecen en la elaboración de matrices hidrofílicas de una mezcla de dos polímeros aniónicos (óxido de polietileno y carboximetilcelulosa sódica) con fármacos cargados positivamente [55]. Se consiguen perfiles de liberación lenta gracias al establecimiento de enlaces de hidrógeno entre el polímero aniónico y el fármaco catiónico, lo que lleva a una formación reversible de complejos fármaco-polímero, dando lugar a una nueva forma de activo (sal), que tiene una liberación más prolongada en comparación con el principio activo original. Este hecho demuestra que la carga del fármaco es otro factor a tener en cuenta a la hora de formular matrices de liberación sostenida.

En la formulación de sistemas matriciales no se puede perder de vista la importancia que tienen aquellos aspectos relacionados con la formulación, como son la forma y el espesor del comprimido, la presencia de otros excipientes, la porosidad y resistencia a la rotura del comprimido, e incluso el proceso de fabricación del mismo.

El conocimiento de todos y cada uno de los aspectos comentados, son fundamentales a la hora de formular matrices hidrofílicas y comprender los complejos mecanismos involucrados en la liberación de los fármacos desde estos sistemas. De esta forma será más fácil desarrollar medicamentos con la biodisponibilidad en magnitud y velocidad adecuada.

Estavudina (d4T; 2',3'-didehidro-3'-desoxitimidina) es un inhibidor de la transcriptasa inversa análogo del nucleósido (ITIAN) de timidina prescrito en combinación con otros agentes antirretrovirales, en el marco de la terapéutica antirretroviral de alta actividad (HAART) [56]. En España están disponibles cápsulas de liberación inmediata (20, 30 y 40 mg) que se dosifican dos veces al día y una solución oral a la dosis de 1 mg/mL (Zerit<sup>®</sup>; Bristol-Myers Squibb, Middlesex, UK).

La estructura química de estavudina, se puede ver en la figura 1.1 y sus características farmacocinéticas en la tabla 1.2.



Peso molecular: 224.21 [g/mol]  
 Fórmula molecular: C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>  
 Solubilidad en agua: 83 mg/mL

**Figura 1.1.** Estructura química y propiedades de estavudina (18283 de Pubchem de NCBI)

Dosis recomendada	< 60 Kg: 30 mg /12 h > 60 Kg: 40 mg /12 h
Biodisponibilidad oral (%)	86 ± 18 <sup>a</sup>
Semivida plasmática (h)	1,3 - 2,3
C <sub>max</sub> (ng/mL)	1215 ± 32 (con 40 mg/12h) <sup>a</sup>
C <sub>min</sub> (ng/mL)	8 ± 9 (con 40 mg/12h) <sup>a</sup>
V <sub>d</sub> (L/Kg)	0,74 ± 20 <sup>a</sup>
Cl (L/h/Kg)	0,30 ± 32 <sup>a</sup>
AUC <sub>0-12h</sub> (ng.h/mL)	2087 ± 39 (con 40 mg/12h) <sup>a</sup>
Metabolización	Hepática
Excreción	Renal (50 % inalterado)

AUC: Área bajo la curva; <sup>a</sup> Expresado como media ± DE

**Tabla 1.2.** Características farmacocinéticas de estavudina en el hombre [2, 57-59]

Al tratarse la estavudina de un fármaco muy soluble en agua y con unas características farmacocinéticas adecuadas, resulta un buen candidato para la elaboración de formas farmacéuticas de liberación sostenida.

En el marco del proceso de desarrollo de formas farmacéuticas de liberación sostenida, y en una primera fase de trabajo, resulta fundamental establecer el tipo y la velocidad de liberación óptima del fármaco que garantice unos determinados objetivos terapéuticos. Posteriormente se aborda la etapa de preformulación y el desarrollo tecnológico de la formulación, que permita conseguir el perfil de liberación del fármaco previamente establecido. En esta fase resulta fundamental identificar las fases críticas del proceso de elaboración. Finalmente se procede a la evaluación tecnológica y biofarmacéutica de la forma farmacéutica de liberación sostenida.

De acuerdo con estas premisas se han planteado diversos objetivos conducentes al desarrollo y evaluación de matrices hidrofílicas de estavudina que permitan controlar la velocidad de liberación y conseguir concentraciones plasmáticas dentro del margen terapéutico durante periodos de 24 h.

El primer objetivo de este trabajo ha sido realizar una completa revisión bibliográfica acerca de los factores más críticos involucrados en la liberación de los fármacos desde sistemas matriciales hidrofílicos.

El segundo objetivo de este trabajo ha sido el diseño del perfil óptimo de liberación de estavudina desde matrices hidrofílicas de liberación sostenida basado en criterios farmacocinéticos y farmacodinámicos (PK/PD) y mediante simulación de Monte Carlo.

El tercer objetivo de este trabajo ha sido, el diseño tecnológico y la evaluación de las matrices hidrofílicas de estavudina que respondieran a los criterios de comportamiento biofarmacéutico previamente estudiados.

El cuarto objetivo de este trabajo ha sido, a partir de las curvas de disolución de las matrices elaboradas, llevar a cabo el ajuste de sus perfiles de liberación a ecuaciones de modelos matemáticos mecanicistas que permitan interpretar y predecir los mecanismos que intervienen en los procesos de liberación del fármaco.

El quinto y último objetivo ha sido estudiar la influencia del mecanismo de liberación del fármaco en las correlaciones *in vitro in vivo* (IVIVC) de nivel A, utilizando simulación de Monte Carlo.

## BIBLIOGRAFÍA

[1] OMS VHI/SIDA [homepage on the Internet]. Nota descriptiva VIH/SIDA N°360 Available in: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/es/>, Updated 2013 June, Accessed July 26th, 2013.

[2] Gesida-seimc.org [homepage on the Internet]. Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el SIDA. Documento de consenso de Gesida/Plan Nacional sobre el SIDA respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana, Available in: <http://www.gesida-seimc.org/pcientifica/fuentes/DcyRc/gesidadcyrc2013-TAR-adulto.pdf>, Updated 2013 January, Accessed July 26th, 2013.

[3] D. Descamps, P. Flandre, V. Calvez, et al., Mechanisms of virologic failure in previously untreated HIV-infected patients from a trial of induction-maintenance therapy, JAMA, 283 (2000) 205-211.

[4] H. Knobel, R. Polo, I. Escobar, Recomendaciones Gesida/SEFH/PNS para mejorar la adherencia al tratamiento antirretroviral, Available in: [www.gesida.seimc.org/pcientifica/fuentes/DcyRc/Gesida\\_dcyrc2008\\_adherenciaTAR.pdf](http://www.gesida.seimc.org/pcientifica/fuentes/DcyRc/Gesida_dcyrc2008_adherenciaTAR.pdf), Updated June, 2008, Accessed July 26th 2013.

- [5] D. Patterson, S. Swindells, J. Mohr, M. Brester, E. Vergis, C. Squier, M. Wagener, N. Singh, How much adherence is enough? A prospective study of adherence to protease inhibitor therapy using MEMSCaps., Paper presented at the 6th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, IL, January., (1999).
- [6] L.E. Mansoor, R. Dowse, Medicines information and adherence in HIV/AIDS patients, *J Clin Pharm Ther*, 31 (2006) 7-15.
- [7] S.D. Portsmouth, J. Osorio, K. McCormick, B.G. Gazzard, G.J. Moyle, Better maintained adherence on switching from twice-daily to once-daily therapy for HIV: a 24-week randomized trial of treatment simplification using stavudine prolonged-release capsules, *HIV Med*, 6 (2005) 185-190.
- [8] A. Miranda, M. Millán, I. Caraballo, Study of the critical points of HPMC hydrophilic matrices for controlled drug delivery, *Int J Pharm* 311 (2006) 75-81.
- [9] X. Huang, C.S. Brazel, On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems, *J Control Release*, 73 (2001) 121-136.
- [10] P. Colombo, R. Bettini, N.A. Peppas, Observation of swelling process and diffusion front position during swelling in hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) matrices containing a soluble drug, *J Control Release*, 61 (1999) 83-91.
- [11] P. Colombo, R. Bettini, P. Santi, N.A. Peppas, Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance, *Pharm Sci Technol Today*, 3 (2000) 198-204.
- [12] C. Ferrero, D. Massuelle, D. Jeannerat, E. Doelker, Towards elucidation of the drug release mechanism from compressed hydrophilic matrices made of cellulose ethers. I. Pulse-field-gradient spin-echo NMR study of sodium salicylate diffusivity in swollen hydrogels with respect to polymer matrix physical structure, *J Control Release*, 128 (2008) 71-79.
- [13] J. Siepmann, F. Siepmann, Mathematical modeling of drug delivery, *Int J Pharm* 364 (2008) 328-343.
- [14] J. Siepmann, F. Siepmann, Modeling of diffusion controlled drug delivery, *J Control Release*, 161 (2012) 351-362.
- [15] J. Siepmann, F. Siepmann, Mathematical modeling of drug dissolution, *Int J Pharm*, 453 (2013) 12-24.
- [16] P.I. Lee, Modeling of drug release from matrix systems involving moving boundaries: Approximate analytical solutions, *Int J Pharm*, 418 (2011) 18-27.
- [17] C. Yin, X. Li, Anomalous diffusion of drug release from a slab matrix: Fractional diffusion models, *Int J Pharm*, 418 (2011) 78-87.
- [18] J.E. Brady, T. Dürig, S.S. Shang, Polymer Properties and Characterization. , in: Y. Qiu, L. Liu, Y. Chen, G.G.Z. Zhang, W. Porter (Eds.) *Developing Solid Oral Dosage Forms Pharmaceutical Theory&Practice*, Esselvier, New York, 2009.
- [19] A. Viriden, B. Wittgren, A. Larsson, Investigation of critical polymer properties for polymer release and swelling of HPMC matrix tablets, *Eur J Pharm Sci*, 36 (2009) 297-309.

- [20] K. Huanbutta, K. Cheewatanakornkool, K. Terada, J. Nunthanid, P. Sriamornsak, Impact of salt form and molecular weight of chitosan on swelling and drug release from chitosan matrix tablets, *Carbohydr Polym*, 97 (2013) 26-33.
- [21] R. Das, S. Pal, Hydroxypropyl methyl cellulose grafted with polyacrylamide: Application in controlled release of 5-amino salicylic acid, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 110 (2013) 236-241.
- [22] M.M. Talukdar, A. Michoel, P. Rombaut, R. Kinget, Comparative study on xanthan gum and hydroxypropylmethyl cellulose as matrices for controlled-release drug delivery I. Compaction and in vitro drug release behaviour, *Int J Pharm* 129 (1996) 233-241.
- [23] P.R. Ravi, S. Ganga, R.N. Saha, Design and in Vitro Evaluation of Zidovudine Oral Controlled Release Tablets Prepared Using Hydroxypropyl Methylcellulose, *Chem. Pharm. Bull.*, 56 (2008) 518-524.
- [24] A. Bose, T.W. Wong, N. Singh, Formulation development and optimization of sustained release matrix tablet of Itopride HCl by response surface methodology and its evaluation of release kinetics, *Saudi Pharm J*, 21 (2013) 201-213.
- [25] P.S. Hiremath, R.N. Saha, Oral Controlled Release Formulations of Rifampicin. Part II: Effect of Formulation Variables and Process Parameters on In Vitro Release, *Drug Deliv*, 15 (2008) 159-168.
- [26] P. Gao, J.W. Skoug, P.R. Nixon, T.R. Ju, N.L. Stemm, K.C. Sung, Swelling of hydroxypropyl methylcellulose matrix tablets. 2. Mechanistic study of the influence of formulation variables on matrix performance and drug release, *J Pharm Sci*, 85 (1996) 732-740.
- [27] L.S.C. Wan, P.W.S. Heng, L.F. Wong, The effect of hydroxypropylmethylcellulose on water penetration into a matrix system, *Int J Pharm* 73 (1991) 111-116.
- [28] N. Sarkar, Thermal gelation properties of methyl and hydroxypropyl methylcellulose, *J Appl Polym Sci Symp* 24 (1979) 1073-1087.
- [29] B.J. Lee, S.G. Ryu, J.H. Cui, Formulation and release characteristics of hydroxypropyl methylcellulose matrix tablet containing melatonin, *Drug Dev Ind Pharm*, 25 (1999) 493-501.
- [30] I. Caraballo, Critical points in the formulation of pharmaceutical swellable controlled release dosage forms-Influence of particle size, *Particuology*, 7 (2009) 421-425.
- [31] Á. Aguilar-de-Leyva, C. Cifuentes, A.R. Rajabi-Siahboomi, I. Caraballo, Study of the critical points and the role of the pores and viscosity in carbamazepine hydrophilic matrix tablets, *Eur J Pharm Biopharm*, 80 (2012) 136-142.
- [32] P.W.S. Heng, L.W. Chan, M.G. Easterbrook, X. Li, Investigation of the influence of mean HPMC particle size and number of polymer particles on the release of aspirin from swellable hydrophilic matrix tablets, *J Control Release*, 76 (2001) 39-49.
- [33] M.E. Campos-Aldrete, L. Villafuerte-Robles, Influence of the viscosity grade and the particle size of HPMC on metronidazole release from matrix tablets, *Eur J Pharm Biopharm* 43 (1997) 173-178.

- [34] M.A. Dabbagh, J.L. Ford, M.H. Rubinstein, J.E. Hogan, Effects of polymer particle size, compaction pressure and hydrophilic polymers on drug release from matrices containing ethylcellulose, *Int J Pharm* 140 (1996) 85-95.
- [35] K. Mitchell, J.L. Ford, D.J. Armstrong, P.N.C. Elliott, J.E. Hogan, C. Rostron, The influence of the particle size of hydroxypropylmethylcellulose K15M on its hydration and performance in matrix tablets, *Int J Pharm* 100 (1993) 175-179.
- [36] K. Asare-Addo, B.R. Conway, H. Larhrib, M. Levina, A.R. Rajabi-Siahboomi, J. Tetteh, J. Boateng, A. Nokhodchi, The effect of pH and ionic strength of dissolution media on in-vitro release of two model drugs of different solubilities from HPMC matrices, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 111 (2013) 384-391.
- [37] M.M. Talukdar, R. Kinget, Swelling and drug release behaviour of xanthan gum matrix tablets, *Int J Pharm* 120 (1995) 63-72.
- [38] V.B. Bueno, R. Bentini, L.H. Catalani, D.F.S. Petri, Synthesis and swelling behavior of xanthan-based hydrogels, *Carbohydr Polym*, 92 (2013) 1091-1099.
- [39] K.S. Soppimath, T.M. Aminabhavi, A.M. Dave, S.G. Kumbar, W.E. Rudzinski, Stimulus-responsive "smart" hydrogels as novel drug delivery systems, *Drug Dev Ind Pharm*, 28 (2002) 957-974.
- [40] J.M. Zuidema, M.M. Pap, D.B. Jaroch, F.A. Morrison, R.J. Gilbert, Fabrication and characterization of tunable polysaccharide hydrogel blends for neural repair, *Acta Biomater*, 7 (2011) 1634-1643.
- [41] K. Tahara, K. Yamamoto, T. Nishihata, Application of model-independent and model analysis for the investigation of effect of drug solubility on its release rate from hydroxypropyl methylcellulose sustained release tablets, *Int J Pharm* 133 (1996) 17-27.
- [42] K. Tahara, K. Yamamoto, T. Nishihata, Overall mechanism behind matrix sustained release (SR) tablets prepared with hydroxypropyl methylcellulose 2910, *J Control Release*, 35 (1995) 59-66.
- [43] J.L. Ford, K. Mitchell, P. Rowe, D.J. Armstrong, P.N.C. Elliott, C. Rostron, J.E. Hogan, Mathematical modelling of drug release from hydroxypropylmethylcellulose matrices: Effect of temperature, *Int J Pharm* 71 (1991) 95-104.
- [44] R. Bettini, P.L. Catellani, P. Santi, G. Massimo, N.A. Peppas, P. Colombo, Translocation of drug particles in HPMC matrix gel layer: effect of drug solubility and influence on release rate, *J Control Release* 70 (2001) 383-391.
- [45] P. Avalle, S.R. Pygall, J. Pritchard, A. Jastrzemska, Interrogating erosion-based drug liberation phenomena from hydrophilic matrices using near infrared (NIR) spectroscopy, *Eur J Pharm Sci*, 48 (2013) 72-79.
- [46] P. Colombo, R. Bettini, G. Massimo, P.L. Catellani, P. Santi, N.A. Peppas, Drug diffusion front movement is important in drug release control from swellable matrix tablets, *J Pharm Sci*, 84 (1995) 991-997.

- [47] P. Colombo, R. Bettini, P.L. Catellani, P. Santi, N.A. Peppas, Drug volume fraction profile in the gel phase and drug release kinetics in hydroxypropylmethyl cellulose matrices containing a soluble drug, *Eur J Pharm Sci* 9 (1999) 33-40.
- [48] J. Siepmann, Y. Karrout, M. Gehrke, F.K. Penz, F. Siepmann, Predicting drug release from HPMC/lactose tablets, *Int J Pharm*, 441 (2013) 826-834.
- [49] C.J. Kim, Release kinetics of coated, donut-shaped tablets for water soluble drugs, *Eur J Pharm Sci*, 7 (1999) 237-242.
- [50] H. Kim, R. Fassihi, A new ternary polymeric matrix system for controlled drug delivery of highly soluble drugs: I. Diltiazem hydrochloride, *Pharm Res*, 14 (1997) 1415-1421.
- [51] J.L. Ford, M.H. Rubinstein, F. McCaul, J.E. Hogan, P.J. Edgar, Importance of drug type, tablet shape and added diluents on drug release kinetics from hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets, *Int J Pharm* 40 (1987) 223-234.
- [52] Dow, Using Dow Excipients for Controlled Release of Drugs in Hydrophilic Matrix Systems. The Dow Chemical Company. USA, (2006).
- [53] R.P. Batycky, J. Hanes, R. Langer, D.A. Edwards, A theoretical model of erosion and macromolecular drug release from biodegrading microspheres, *J Pharm Sci*, 86 (1997) 1464-1477.
- [54] J.A. Kimber, S.G. Kazarian, F. Štěpánek, Formulation design space analysis for drug release from swelling polymer tablets, *Powder Technol*, 236 (2013) 179-187.
- [55] D. Palmer, M. Levina, D. Douroumis, M. Maniruzzaman, D.J. Morgan, P.F. Thomas, A.R. Rajabi-Siahboomi, A. Nokhodchi, Mechanism of synergistic interactions and its influence on drug release from extended release matrices manufactured using binary mixtures of polyethylene oxide and sodium carboxymethylcellulose, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 104 (2013) 174-180.
- [56] R.S. Hogg, K.V. Heath, B. Yip, et al., Improved survival among hiv-infected individuals following initiation of antiretroviral therapy, *JAMA*, 279 (1998) 450-454.
- [57] F. Ito, H. Fujimori, H. Kawakami, K. Kanamura, K. Makino, Optimized preparation of biodegradable polymer particles encapsulating low-molecular-weight hydrophilic drugs, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, 402 (2012) 29-36.
- [58] H. Andersson, J. Hjártstam, M. Stading, C. von Corswant, A. Larsson, Effects of molecular weight on permeability and microstructure of mixed ethyl-hydroxypropyl-cellulose films, *Eur J Pharm Sci*, 48 (2013) 240-248.
- [59] H.J. Schaad, B.G. Petty, D.M. Grasela, B. Christofalo, R. Raymond, M. Stewart, Pharmacokinetics and safety of a single dose of stavudine (d4T) in patients with severe hepatic impairment, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 41 (1997) 2793-2799



# CONCLUSIONES

---



1. El estudio de revisión bibliográfica realizado pone de manifiesto que entre los factores críticos involucrados en la liberación de los fármacos desde sistemas matriciales hidrofílicos se encuentran el tipo de polímero empleado, su viscosidad y tamaño de partícula, así como el porcentaje utilizado en la fórmula o las mezclas de varios polímeros y sus proporciones. Entre los factores relacionados con el fármaco se encuentran su solubilidad en agua, o el tamaño de partícula. Factores relacionados con el método de obtención de las matrices, como las dimensiones de la misma o la fuerza de compresión pueden condicionar la velocidad de liberación del fármaco. El conocimiento de estos factores junto con el uso de modelos matemáticos como herramientas para estimar la cinética de liberación del fármaco ha permitido optimizar las fases de pre-formulación durante el desarrollo de formulaciones de liberación sostenida.
2. Utilizando información farmacocinética y farmacodinámica (PK/PD) y mediante técnicas de convolución y simulación de Monte Carlo se ha diseñado el perfil de liberación óptimo de estavudina desde matrices hidrófilas de liberación sostenida. Valores de la constante de liberación de primer orden de  $K_1 = 0,05 \text{ h}^{-1}$  y de la constante de liberación de orden cero de  $K_0 = 4 \text{ mg/h}$ , permiten alcanzar concentraciones plasmáticas del fármaco dentro del margen terapéutico durante periodos de 24 horas.
3. Los resultados de los estudios de preformulación por calorimetría diferencial de barrido ponen de manifiesto que el empleo de lubricantes como magnesio estearato o estearil fumarato sódico, de dióxido de silicio coloidal, así como de carbómero 940 en las proporciones 1:1 podría dar lugar a incompatibilidades. El uso de magnesio estearato y de dióxido de silicio coloidal en la proporción 1:0,025, no demuestran sospecha de incompatibilidad.
4. Se ha optimizado el proceso de elaboración de matrices hidrófilas de estavudina obtenidas por compresión directa. La utilización de hidroxipropil metilcelulosa (100.000 mPa.s) como agente gelificante ha permitido obtener cinéticas de liberación de primer orden con una constante de liberación de  $K_1 < 0,1 \text{ h}^{-1}$ . La utilización de goma xantana ha permitido obtener cinéticas de liberación de orden cero con una constante de liberación  $K_0$  de aproximadamente 4 mg/h durante 10

horas. El uso de Avicel<sup>®</sup> DG como diluyente ha sido determinante para la consecución de los dos perfiles de liberación propuestos.

5. Los resultados de la evaluación de los perfiles de disolución de los lotes elaborados ponen de relieve que el uso del grado de HPMC de mayor viscosidad ha permitido obtener perfiles de liberación de primer orden más lentos que los grados de menor viscosidad. Así mismo, la estructura molecular de los derivados de la celulosa ha resultado más eficaz para controlar la velocidad de liberación del fármaco que los derivados de carragenina.
6. Las matrices elaboradas con goma xantana no presentan efecto *burst* y dan lugar a cinéticas de liberación de orden cero hasta las 10 horas con pérdida de linealidad en el tramo final de la curva de disolución. En el caso de las matrices elaboradas con carbómero y mezclas del mismo con HPMC, los perfiles obtenidos indican una liberación inicial más rápida y una mayor pérdida de linealidad que los perfiles de los lotes a base de goma xantana.
7. El ajuste de los perfiles de liberación de las matrices elaboradas a ecuaciones de modelos matemáticos mecanicistas, ha permitido conocer los mecanismos implicados en el proceso de liberación. Los resultados obtenidos indican que existe una combinación de los mecanismos de difusión y erosión en la mayoría de los lotes ensayados. Las matrices elaboradas con carragenanos han presentado mecanismos basados en la erosión.
8. La ecuación de Weibull ha presentado mejor ajuste de los perfiles de disolución que la ecuación de primer orden. La ecuación de orden cero modificada que tiene en cuenta la fractalidad del sistema, ha mostrado mejor ajuste que la ecuación de orden cero. Las matrices de liberación sostenida son sistemas complejos en los que la cinética de liberación del fármaco se puede explicar en términos de fractalidad.
9. Se ha establecido una correlación lineal múltiple ente la constante de disolución de primer orden de estavudina y variables de tipo tecnológico. Utilizando simulación de Monte Carlo y mediante análisis de sensibilidad se ha podido demostrar que las variables críticas con mayor implicación en la cinética de

disolución de estavudina fueron la viscosidad de la HPMC, seguida del porcentaje de diluyente y del porcentaje de polímero retardante utilizado en el comprimido.

10. Se han simulado los perfiles de liberación *in vitro* e *in vivo* desde matrices hidrófilas de estavudina mediante simulación de Monte Carlo. El estudio de correlación IVIVC entre los datos simulados *in vitro* e *in vivo* pone de manifiesto que el mecanismo implicado en la liberación del fármaco puede afectar al tipo y a la linealidad de correlación. Se han obtenido mejores correlaciones *in vitro/in vivo* cuando los datos de disolución *in vitro* se correlacionan con los datos de liberación de fármaco *in vivo* obtenidos por deconvolución entre los niveles plasmáticos obtenidos después de la administración de la forma farmacéutica de liberación sostenida y los niveles en plasma obtenidos después de la administración de la forma farmacéutica de liberación inmediata.

Salamanca, 3 de Septiembre de 2013

Fdo. Cristina Maderuelo Martín



**ANEXO**

---

**Determinación analítica de estavudina**





En este anexo se recoge la puesta a punto y validación del método analítico para la cuantificación de estavudina en el medio de disolución, necesario para los ensayos de disolución *in vitro* de las formulaciones estudiadas.

Se trata de una técnica de espectrofotometría de absorción ultravioleta-visible. La validación de esta técnica se ha realizado tomando como referencia las guías ICH para la validación de técnicas analíticas (ICH guideline Q2-R).

El equipo con el que se han llevado a cabo los ensayos de disolución *in vitro* de los comprimidos matriciales de estavudina, se trata de un sistema combinado (*on/off line*) con dos posibilidades de muestreo:

- Sistema de automatización *off line*, que está formado por un colector de fracciones que recoge las muestras extraídas de los vasos de disolución a los tiempos prefijados. Estas muestras son posteriormente analizadas de forma manual en el espectrofotómetro.
- Sistema de automatización *on line*, que consta de un dispositivo que recoge las muestras de todos los vasos a cada tiempo y las conduce directamente hasta las cubetas de lectura del espectrofotómetro. Tras la lectura de la absorbancia esta muestra es devuelta al vaso de disolución.

### **Cuantificación de estavudina por UV-visible**

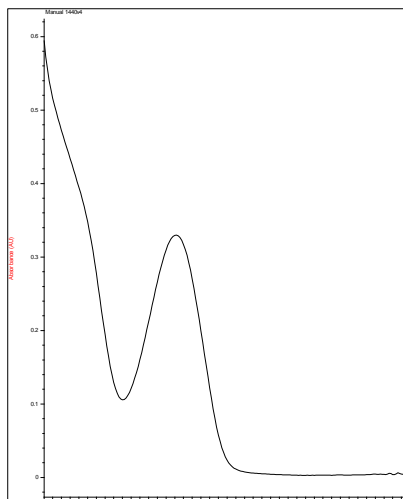
Condiciones espectrofotométricas para el espectrofotómetro Agilent 8453.

- Longitud de onda: 265 nm
- Cubeta de 1 mm de paso óptico

#### *Validación de la técnica analítica*

##### 1. Selectividad

Se analizaron, siguiendo las condiciones analíticas descritas anteriormente, una solución blanco (SB), una solución placebo (SP) y una solución de referencia de estavudina (SR-D), no detectándose respuesta a la longitud de onda de trabajo para SB y SP.



**Figura 1.** Espectro ultravioleta de estavudina

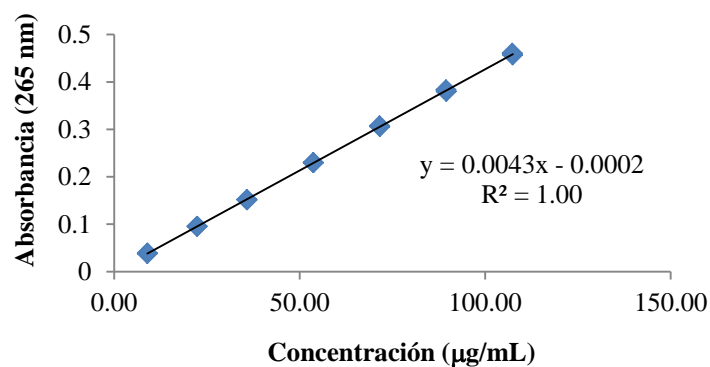
## 2. Linealidad

Para realizar el estudio de linealidad, se prepararon dos curvas de calibración de soluciones de referencia:

- SR-A: 10 % de la concentración teórica: 8,88  $\mu\text{g/mL}$
- SR-B: 25 % de la concentración teórica: 22,20  $\mu\text{g/mL}$
- SR-C: 40 % de la concentración teórica: 35,55  $\mu\text{g/mL}$
- SR-D: 60 % de la concentración teórica: 53,33  $\mu\text{g/mL}$
- SR-E: 80 % de la concentración teórica: 71,10  $\mu\text{g/mL}$
- SR-F: 100 % de la concentración teórica: 88,88  $\mu\text{g/mL}$
- SR-G: 120 % de la concentración teórica: 106,66  $\mu\text{g/mL}$

Se analizaron siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

Los resultados obtenidos fueron un valor de  $r=1,00$ , un coeficiente de variación del factor relativo de respuesta del 0,73 %.



**Figura 2.** Recta de regresión obtenida tras el ensayo de linealidad

Solución	Absorbancia	Concentración teórica (mg/mL)	Concentración real (mg/mL)	Factor de respuesta
SR-1 A	3,80E-02	8,88	8,95	4,25E-03
SR-1 B	9,53E-02	22,20	22,38	4,26E-03
SR-1 C	1,51E-01	35,55	35,81	4,22E-03
SR-1 D	2,30E-01	53,33	53,72	4,27E-03
SR-1 E	3,05E-01	71,10	71,62	4,27E-03
SR-1 F	3,80E-01	88,88	89,53	4,24E-03
SR-1 G	4,57E-01	106,66	107,44	4,25E-03
SR-2 A	3,89E-02	8,88	8,94	4,35E-03
SR-2 B	9,51E-02	22,20	22,36	4,26E-03
SR-2 C	1,52E-01	35,55	35,77	4,25E-03
SR-2 D	2,29E-01	53,33	53,66	4,28E-03
SR-2 E	3,07E-01	71,10	71,54	4,29E-03
SR-2 F	3,83E-01	88,88	89,43	4,28E-03
SR-2 G	4,60E-01	106,66	107,32	4,29E-03
			Media	4,27E-03
			SD	3,10E-05
			CV (%)	0,73

**Tabla 1.** Resultados del estudio de linealidad del método analítico

### 3. Exactitud

Indica la capacidad del método analítico de dar resultados lo más próximos posible al valor real. Si la diferencia entre el valor hallado, y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena. Una diferencia grande significa que la exactitud es inadecuada, y revela la existencia de errores que deberán corregirse.

Se ha calculado el % de recuperación para las concentraciones estudiadas a partir de los datos obtenidos en la linealidad.

El valor medio del % de recuperación experimental fue de 99,42 y la DER de la recuperación de 0,79 %.

Solución	Absorbancia	Concentración real (mg/mL)	Concentración recalculada (mg/mL)	% Recuperación
SR-1 A	3,80E-02	8,95	8,89	99,30
SR-1 B	9,53E-02	22,38	22,22	99,27
SR-1 C	1,51E-01	35,81	35,17	98,22
SR-1 D	2,30E-01	53,72	53,43	99,47
SR-1 E	3,05E-01	71,62	71,09	99,25
SR-1 F	3,80E-01	89,53	88,39	98,72
SR-1 G	4,57E-01	107,44	106,24	98,88
SR-2 A	3,89E-02	8,94	9,09	101,67
SR-2 B	9,51E-02	22,36	22,17	99,17
SR-2 C	1,52E-01	35,77	35,42	99,02
SR-2 D	2,29E-01	53,66	53,41	99,54
SR-2 E	3,07E-01	71,54	71,49	99,92
SR-2 F	3,83E-01	89,43	89,13	99,66
SR-2 G	4,60E-01	107,32	107,12	99,82
			Media	99,42
			SD	0,79
			CV (%)	0,79

**Tabla 2.** Resultados de la exactitud del método analítico

#### 4. Precisión

##### A. Repetibilidad o Precisión intradía

Una batería de seis réplicas de SR-A, SR-D y SR-G fue preparada y analizada.

El coeficiente de variación de la respuesta fue de 2,95 % para la concentración inferior (8,88 µg/mL), de 2,13 % para la concentración media (53, 33µg/mL) y de 0,99 % para la concentración superior (106,66 µg/mL)

Solución	Absorbancia	Solución	Absorbancia	Solución	Absorbancia
SR-1 A	4,14E-02	SR-1 D	2,40E-01	SR-1 G	4,68E-01
SR-1 A	3,91E-02	SR-1 D	2,32E-01	SR-1 G	4,59E-01
SR-1 A	4,16E-02	SR-1 D	2,28E-01	SR-1 G	4,58E-01
SR-1 A	4,12E-02	SR-1 D	2,31E-01	SR-1 G	4,60E-01
SR-1 A	3,95E-02	SR-1 D	2,40E-01	SR-1 G	4,67E-01
SR-1 A	3,92E-02	SR-1 D	2,34E-01	SR-1 G	4,57E-01
Media	0,04	Media	0,23	Media	0,46
SD	1,19E-03	SD	4,98E-03	SD	4,59E-03
CV (%)	2,95	CV (%)	2,13	CV (%)	0,99

**Tabla 3.** Resultados de la repetibilidad del método analítico

## B. Reproducibilidad o Precisión interdía

Las muestras anteriores fueron preparadas y valoradas en tres días diferentes.

La diferencia entre el coeficiente de variación de la respuesta obtenida en los distintos días fue de 2,95 % para la concentración inferior, de 2,15 % para la concentración media y de 1,07 % para la concentración superior.

La técnica se considera reproducible si para cada concentración, la diferencia entre las medias de la absorbancia obtenidas para los distintos días es  $\leq 5$  %.

Día	Solución	Absorbancia	Solución	Absorbancia	Solución	Absorbancia
1	SR-1 A	4,14E-02	SR-1 D	2,40E-01	SR-1 G	4,68E-01
1	SR-1 A	3,91E-02	SR-1 D	2,32E-01	SR-1 G	4,59E-01
1	SR-1 A	4,16E-02	SR-1 D	2,28E-01	SR-1 G	4,58E-01
1	SR-1 A	4,12E-02	SR-1 D	2,31E-01	SR-1 G	4,60E-01
1	SR-1 A	3,95E-02	SR-1 D	2,40E-01	SR-1 G	4,67E-01
1	SR-1 A	3,92E-02	SR-1 D	2,34E-01	SR-1 G	4,57E-01
2	SR- A	4,06E-02	SR- D	2,27E-01	SR- G	4,54E-01
2	SR- A	3,95E-02	SR- D	2,39E-01	SR- G	4,58E-01
2	SR- A	3,92E-02	SR- D	2,29E-01	SR- G	4,59E-01
3	SR- A	4,20E-02	SR- D	2,31E-01	SR- G	4,70E-01
3	SR- A	3,98E-02	SR- D	2,33E-01	SR- G	4,57E-01
3	SR- A	3,84E-02	SR- D	2,25E-01	SR- G	4,58E-01
	Media	0,04	Media	0,23	Media	0,46
	SD	1,18E-03	SD	5,01E-03	SD	4,91E-03
	CV (%)	2,95	CV (%)	2,15	CV (%)	1,07

**Tabla 4.** Resultados de la reproducibilidad del método analítico

## 5. Estabilidad

La muestra 1 de concentración intermedia, SR-D, preparada para el estudio de repetibilidad se analizó por triplicado después de 24, 48 y 72 h conservadas a temperatura ambiente, y a las 24, 48 y 72 h conservada en frigorífico entre 2 y 8 °C.

El valor de absorbancia, para todas las determinaciones, estuvo comprendido entre 0,24591 y 0,22249 (media de la muestra a tiempo cero  $\pm 5$  %).

Tiempo	Condición	Solución	Absorbancia
0	np	SR-1 D	2,40E-01
0	np	SR-1 D	2,32E-01
0	np	SR-1 D	2,28E-01
0	np	SR-1 D	2,31E-01
0	np	SR-1 D	2,40E-01
0	np	SR-1 D	2,34E-01
24 h	22 °C	SR- D	2,32E-01
24 h	22 °C	SR- D	2,40E-01
24 h	22 °C	SR- D	2,31E-01
24 h	2-8 °C	SR- D	2,35E-01
24 h	2-8 °C	SR- D	2,42E-01
24 h	2-8 °C	SR- D	2,34E-01
48 h	22 °C	SR- D	2,34E-01
48 h	22 °C	SR- D	2,33E-01
48 h	22 °C	SR- D	2,32E-01
48 h	2-8 °C	SR- D	2,35E-01
48 h	2-8 °C	SR- D	2,33E-01
48 h	2-8 °C	SR- D	2,33E-01
72 h	22 °C	SR- D	2,24E-01
72 h	22 °C	SR- D	2,24E-01
72 h	22 °C	SR- D	2,29E-01
72 h	2-8 °C	SR- D	2,25E-01
72 h	2-8 °C	SR- D	2,30E-01
72 h	2-8 °C	SR- D	2,30E-01
		Media	0,23
		SD	4,83E-03
		CV (%)	2,08

\* np: no procede

**Tabla 5.** Resultados de la estabilidad del método analítico

#### *Validación de la técnica analítica on line*

Se comprobó con 12 datos, que los resultados obtenidos con la técnica *on line* y con la técnica *off line* no difieren en más de un 10 %.

Para ello se tomaron los datos del último tiempo del test de disolución (24 h) de dos lotes fabricados (6 comprimidos por lote) y se analizaron tanto *on line* como *off line*. Los lotes empleados fueron: F12-01 y F12-02.

La tabla 6 recoge los datos obtenidos. Se puede observar como los resultados se ajustan al límite propuesto.

Lote	Condición	Vaso	Absorbancia	CV de la diferencia (%)
F12-01	<i>on line</i>	vaso 1	3,49E-01	
	manual	vaso 1	3,71E-01	6,15
	<i>on line</i>	vaso 2	3,62E-01	
	manual	vaso 2	3,85E-01	6,32
	<i>on line</i>	vaso 3	3,06E-01	
	manual	vaso 3	3,01E-01	1,67
	<i>on line</i>	vaso 4	3,21E-01	
	manual	vaso 4	3,30E-01	2,79
	<i>on line</i>	vaso 5	3,35E-01	
	manual	vaso 5	3,50E-01	4,36
	<i>on line</i>	vaso 6	3,41E-01	
	manual	vaso 6	3,65E-01	6,94
F12-02	<i>on line</i>	vaso 1	3,59E-01	
	manual	vaso 1	3,77E-01	4,96
	<i>on line</i>	vaso 2	3,51E-01	
	manual	vaso 2	3,51E-01	0,03
	<i>on line</i>	vaso 3	3,18E-01	
	manual	vaso 3	3,19E-01	0,46
	<i>on line</i>	vaso 4	3,20E-01	
	manual	vaso 4	3,37E-01	5,18
	<i>on line</i>	vaso 5	3,28E-01	
	manual	vaso 5	3,50E-01	6,38
	<i>on line</i>	vaso 6	3,47E-01	
	manual	vaso 6	3,53E-01	1,63

**Tabla 6.** Resultados de la validación de la técnica *on line*

La técnica analítica utilizada para la cuantificación de estavudina en el medio de disolución es selectiva, lineal, exacta, repetible y reproducible para el rango de concentraciones estudiado. Igualmente, las muestras preparadas a partir de los comprimidos son estables conservadas durante 72 horas tanto a temperatura ambiente (22 °C) como en frigorífico (5 °C). Por último se ha demostrado que la técnica analítica puesta a punto sirve para la cuantificación *on line* de las muestras obtenidas.

## BIBLIOGRAFÍA

[1] International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH), Q2 (R1): Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology.

