

INTRODUCCIÓN

Para algunos productos farmacéuticos existe una metodología analítica de disolución recomendada por la Farmacopea de los Estados Unidos, pero no necesariamente adecuada para el producto en estudio. En este caso, es recomendable desarrollar la metodología analítica de disolución apta para su uso en los estudios de perfiles de disolución.

OBJETIVO

Desarrollar y validar un método espectrofotométrico preciso y confiable para estimar la liberación del fármaco en tabletas de lamivudina y zidovudina, fármacos de elección en el tratamiento del VIH/SIDA.

RESULTADOS

- Los espectros de absorción para lamivudina (Figura 1A) revelaron diferentes máximas de absorción en los diferentes medios. El espectro de zidovudina (Figura 1B) no mostró variación.
- Los resultados de los parámetros de validación se resumen en la tabla 1.
- Especificidad: No se encontraron interferencias en el placebo y diluyente.
- Linealidad: El coeficiente de determinación (r^2) fue superior de 0.99.
- Exactitud: El porcentaje de recuperación se encontró en el rango de 97% a 101%.
- Precisión: El coeficiente de variación (CV) fue inferior de 2% (intra-ensayo). La precisión evaluada en días diferentes, mostró un CV inferior de 7% y 6% para lamivudina y zidovudina, respectivamente.
- Prueba de filtros: Para la filtración de las muestras, se pueden utilizar los filtros whatman N°41 (f1), N°42 (f2) ó PTFE de 0,45µm (f3).
- Estabilidad de la solución: Las muestras preparadas demostraron ser estables hasta 24 horas.

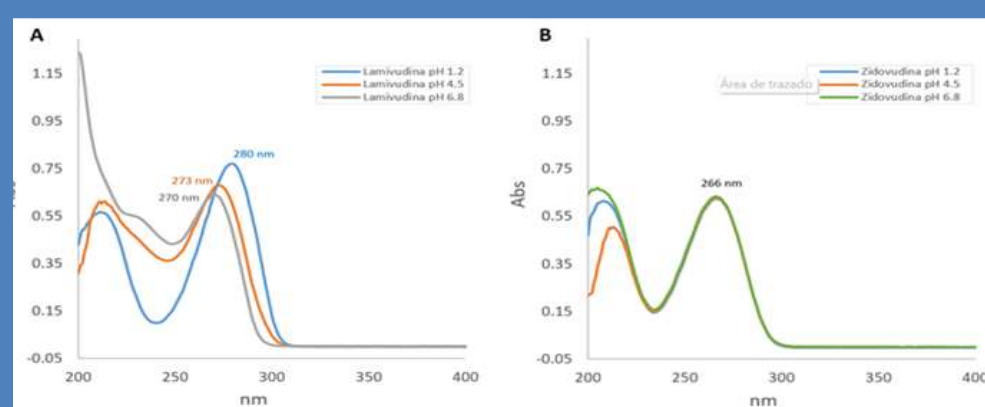


Figura 1. Espectros de absorción para A) Lamivudina y B) Zidovudina en medios de disolución de pH 1.2; 4.5 y 6.8

MATERIAL Y MÉTODO

Muestras: lamivudina 150 mg y zidovudina 300 mg tabletas recubiertas (monofármaco).

Equipos: Disolutor (Varian 705 DS), espectrofotómetro UV/vis (Lambda 25 Perkin Elmer).

Desarrollo del método: Se realizaron barridos espectrales a las longitudes de onda de 200 nm a 400 nm de la solución estándar a concentración nominal (100%). Se seleccionó la longitud de onda de máxima absorción para cada medio utilizado.

Parámetros de validación a estudiar:

- Linealidad y rango: Se preparó una curva analítica de 5 niveles que incluye la concentración nominal del fármaco en estudio. La recta de regresión lineal se obtuvo por el método de mínimos cuadrados.
- Especificidad: Se realizaron los barridos a longitudes de onda de 200 nm a 400 nm de la solución estándar, muestra (producto que contiene el fármaco), placebo (excipientes) y diluyente (medios pH 1.2, 4.5 y 6.8).
- Exactitud: Se determinó por el método de adición del estándar, a partir de 9 muestras que cubren el rango lineal de la validación.
- Precisión intra-ensayo: Se realizó a 3 concentraciones diferentes y por triplicado. Es decir, un total de 9 muestras.
- Precisión inter-ensayo: se evaluó en días diferentes empleando 6 tabletas por cada ensayo, bajo las condiciones de disolución recomendadas por la OMS.
- Prueba de filtros: Se prepararon muestras centrifugadas, sin filtrar (muestra de referencia) versus muestras tratadas con diferentes tipos de filtros (filtros de papel whatman 41, 42 y filtros de jeringa de PTFE de 0,45 µm).
- Estabilidad de la solución: Un grupo de muestras (n=3) fueron medidas a 0 horas y el otro grupo a las 24 horas.



Condiciones de disolución:
 Aparato 2 (paletas)
 75 rpm
 900 mL (37°C)
 Medios de pH 1.2; 4.5 y 6.8
 Muestreo: 5, 10, 15, 20 y 30 min

Tabla 1. Resultados de los parámetros de validación

Parámetro	Criterio	LAMIVUDINA			ZIDOVUDINA		
		pH 1.2	pH 4.5	pH 6.8	pH 1.2	pH 4.5	pH 6.8
Especificidad	Ausencia de interferentes	Ausencia de interferentes	Ausencia de interferentes	Ausencia de interferentes	Ausencia de interferentes	Ausencia de interferentes	Ausencia de interferentes
Rango µg/mL		2.5 a 15	2.5 a 20	2.5 a 20	5 a 20	5 a 20	5 a 20
Linealidad	$r^2 \geq 0.99$	0.9997	0.9996	0.9994	0.9994	0.9996	0.9994
Exactitud	$95\% \leq R \leq 105\%$	97.8-99.9%	99.5-101.0%	99.2-100.3%	98.4-100.8%	97.0-98.7%	98.6-100.2%
Precisión intra-ensayo	$CV \leq 5\%$	1.0%	1.3%	0.5%	1.4%	0.9%	0.8%
Precisión inter-ensayo	$CV \leq 10\%$	5'=0.8%	5'=3.6%	5'=2.9%	5'=5.5%	5'=1.3%	5'=0.1%
		10'=2.7%	10'=0.7%	10'=6.5%	10'=0.0%	10'=1.1%	10'=1.6%
		15'=1.2%	15'=0.6%	15'=5.1%	15'=1.7%	15'=0.4%	15'=0.5%
		20'=1.4%	20'=0.9%	20'=4.0%	20'=2.2%	20'=0.2%	20'=0.5%
		30'=0.8%	30'=0.4%	30'=3.9%	30'=2.6%	30'=0.2%	30'=0.1%
Prueba de filtros	$Da \leq 2\%$	Sf-f1=0.2%	Sf-f1=0.4%	Sf-f1=0.0%	Sf-f1=0.3%	Sf-f1=0.8%	Sf-f1=1.0%
		Sf-f2=0.4%	Sf-f2=0.2%	Sf-f2=0.0%	Sf-f2=0.6%	Sf-f2=0.1%	Sf-f2=0.7%
		Sf-f3=0.2%	Sf-f3=0.3%	Sf-f3=0.3%	Sf-f3=0.5%	Sf-f3=0.6%	Sf-f3=0.2%
Estabilidad de la solución	$Da_{24h} \leq 2\%$	0.4%	0.5%	0.9%	1.2%	0.4%	0.1%

CONCLUSIONES

Se desarrollaron y validaron dos métodos analíticos prácticos y simples por espectrofotometría UV/vis para la cuantificación de lamivudina y zidovudina en perfiles de disolución de medios de pH 1.2, 4.5 y 6.8. Los métodos validados fueron específicos, lineales, exactos y precisos en el rango de validación estudiado; lo que los hace aptos para su uso en estudios de equivalencia *in vitro* en los productos farmacéuticos que contienen lamivudina y zidovudina.

BIBLIOGRAFÍA

- WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: fifty-first report. Annex 6. Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability. 2017.
- International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of analytical procedures: test and methodology Q2(R1). 2005.
- The United States Pharmacopeial Convention USP42-NF37. 2019.