

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA
Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica I



Desarrollo galénico de comprimidos de dos nuevos anticancerosos (Mitonafide y Amonafide2HCl): estudios de estabilidad

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

María Esther Gil Alegre

Directoras

M^a Antonia Camacho Sánchez

Ana Isabel Torres Suárez.

Madrid

ISBN: 978-84-8466-861-9

© María Esther Gil Alegre, 1995

~~Dr. Rosalva CASANUEVA~~

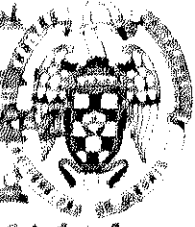
~~Dr. Rosa M. CASANUEVA~~

~~Vocel. Sr. Dr. JOSE SENELO RANS~~

~~Vocel. Sr. Dr. ANTONIO RODRIGUEZ ALVAREZ~~

~~Vocel. Sr. Dr. JOSE MARIA SANTI PABLO~~

~~Secretaria: Sr. Dr. JOSE LUIS ANIBEL GARGA~~



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

TITULO: DESARROLLO GALENICO DE COMPRIMIDOS DE DOS NUEVOS
ANTICANCEROSO (MITONAFIDE Y AMONAFIDE 2HCl):
ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

I
de IV Vol

Memoria presentada para optar al grado de Doctor por:
MARIA ESTHER GIL ALEGRE

Dirigida por: Dra. Dña. MARIA ANTONIA CAMACHO SANCHEZ
y
Dra. Dña. ANA ISABEL TORRES SUAREZ

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGIA FARMACELTICA

Madrid, Septiembre 1.995

Deseo expresar mi agradecimiento:

A los Doctores D. Rafael Cadórniga Carro y D. Jose Luis Lastres Garcia que, como directores del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, han apoyado la realización de la presente Memoria.

A las Doctoras Dña. María Antonia Camacho Sánchez y Dña. Ana Isabel Torres Suárez, por ofrecerme todo lo suyo, desde sus conocimientos hasta su tiempo libre. Han sabido aunar la rigurosidad de un profesional con el apoyo de un amiga.

A los miembros de mi equipo, porque siempre he podido contar con ellos. Han hecho que el trabajo en el laboratorio sea, además de intenso, divertido.

A todas las personas que integran el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Especialmente a aquellas que me dieron clase durante la carrera, porque gracias a ellas me gustó todo lo relacionado con la Farmacia Galénica y la Tecnología Industrial.

Por último, y no por ello menos importante, a la Dra. Dña Rosa María Basante Pol, por su cariño y su apoyo.

INDICE

I. OBJETIVO Y PLANTEAMIENTO	pag. 1
II. PARTE TEORICA. Estabilidad de formas farmacéuticas sólidas:	
comprimidos	pag. 5
1.- DEFINICION Y OBJETIVOS DE LOS ESTUDIOS DE ESTABILIDAD	
1.1.- Inestabilidad física	pag. 8
1.2.- Inestabilidad química	pag. 9
1.3.- Inestabilidad biológica	pag. 9
1.4.- Inestabilidad toxicológica	pag. 10
1.5.- Inestabilidad terapéutica	pag. 10
2.- CAUSAS DE INESTABILIDAD DE COMPRIMIDOS	
2.1.- Factores intrínsecos	pag. 13
2.1.1.- Elementos de formulación	pag. 14
2.1.2.- Proceso tecnológico	pag. 19
2.1.3.- Material de acondicionamiento	pag. 22
2.2.- Factores extrínsecos: Factores ambientales	pag. 22
III. PARTE PRACTICA	pag. 26
1.- ANTECEDENTES	
1.1.- Principios activos	pag. 28
1.2.- Excipientes	pag. 33
2.- PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL	pag. 36
3.- ELABORACION DE LOS COMPRIMIDOS	
3.1.- Método	pag. 48
3.1.1.- Composición de los comprimidos	pag. 49
3.1.2.- Técnicas de elaboración	pag. 51
3.2.- Resultados	pag. 56
4.- VALIDACION DEL METODO ANALITICO POR H.P.L.C.	
4.1.- Método	
4.1.1.- Condiciones experimentales	pag. 65
4.1.2.- Preparación de muestras	pag. 65
4.1.2.1.- Materias primas	pag. 65
4.1.2.2.- Producto terminado	pag. 66

4.1.3.- Protocolo de validación	pag. 66
4.1.3.1.- Linealidad	pag. 66
4.1.3.2.- Sensibilidad	pag. 67
4.1.3.3.- Precisión	pag. 67
4.1.3.4.- Exactitud	pag. 69
4.1.3.5.- Selectividad	pag. 70
4.2.- Resultados	pag. 71
5.- ESTUDIOS DE ESTABILIDAD	
5.1.- Caracterización de los comprimidos recientemente preparados	
5.1.1.- Método	
5.1.1.1.- Dimensiones	pag. 86
5.1.1.2.- Aspecto físico	pag. 86
5.1.1.3.- Peso	pag. 87
5.1.1.4.- Friabilidad	pag. 87
5.1.1.5.- Resistencia a la fractura	pag. 87
5.1.1.6.- Tiempo de disgregación	pag. 87
5.1.1.7.- Perfil de disolución	pag. 88
5.1.1.8.- Contenido en principio activo	pag. 90
5.1.2.- Resultados	
- Comprimidos con Mitonafide	pag. 92
- Comprimidos con Amonafide.2HCl	pag. 99
5.2.- Envejecimiento acelerado: efecto de la humedad	pag. 112
5.2.1.- Método.	
5.2.1.1.- Condiciones de almacenamiento	pag. 114
5.2.1.2.- Caracterización de los comprimidos	pag. 115
5.2.1.3.- Tratamiento de datos	pag. 115
5.2.2.- Resultados.	
- Comprimidos con Mitonafide	pag. 118
- Comprimido M-I	pag. 120
- Comprimido M-II	pag. 131
- Comprimidos con Amonafide.2HCl	pag. 142
- Comprimido A-I	pag. 144

- Comprimido A-II	pag. 156
- Comprimido A-III	pag. 168
5.2.3.- Discusión.	
- Comprimidos con Mitonafide	pag. 181
- Comprimidos con Amonafide.2HCl	pag. 184
5.3.- Envejecimiento acelerado: efecto de la temperatura ...	pag. 188
5.3.1.- Método.	
5.3.1.1.- Condiciones de almacenamiento	pag. 190
5.3.1.2.- Caracterización de los comprimidos	pag. 190
5.3.1.3.- Tratamiento de datos	pag. 191
5.3.1.3.1.- Para estudiar la estabilidad física..	pag. 191
5.3.1.3.2.- Para estudiar la estabilidad química.	pag. 192
5.3.2.- Resultados.	
- Comprimidos con Mitonafide	pag. 197
- Comprimido M-I	pag. 200
- Comprimido M-II	pag. 217
- Comprimidos con Amonafide.2HCl	pag. 235
- Comprimido A-I	pag. 238
- Comprimido A-II	pag. 254
- Comprimido A-III	pag. 271
5.3.3.- Discusión.	
- Comprimidos con Mitonafide	pag. 289
- Comprimidos con Amonafide.2HCl	pag. 293
5.4.- Envejecimiento natural	pag. 297
5.4.1.- Método.	
5.4.1.1.- Condiciones de almacenamiento	pag. 299
5.4.1.2.- Caracterización de los comprimidos	pag. 299
5.4.1.3.- Tratamiento de datos	pag. 300
5.4.2.- Resultados.	
- Comprimidos con Mitonafide	pag. 302
- Comprimido M-I	pag. 304
- Comprimido M-II	pag. 311
- Comprimidos con Amonafide.2HCl	pag. 318

- Comprimido A-I pag. 320

- Comprimido A-II pag. 327

- Comprimido A-III pag. 334

5.4.3.- Discusión.

- Comprimidos con Mitonafide pag. 342

- Comprimidos con Amonafide.2HCl pag. 344

IV. CONCLUSIONES pag. 347

V. BIBLIOGRAFIA pag. 351

I. OBJETIVO Y PLANTEAMIENTO

En el concepto actual de Farmacia Galénica se la considera como la ciencia aplicada que estudia la transformación de los principios activos y productos auxiliares en medicamentos eficaces, seguros y estables. Si se revisan algunas definiciones de Farmacia Galénica, se observa que en todas ellas aparece algún término relacionado con la estabilidad. Por tanto, los estudios de estabilidad constituyen una parte importante de la Farmacia Galénica.

Uno de los objetivos de la Farmacia Galénica es seleccionar las formas farmacéuticas más adecuadas a la acción terapéutica. En el desarrollo de nuevos fármacos, la selección de una forma de dosificación debe hacerse teniendo en cuenta sus características farmacotécnicas, biofarmacéuticas y de estabilidad. Efectivamente, de poco vale que una determinada forma farmacéutica satisfaga todas y cada una de las exigencias farmacotécnicas y biofarmacéuticas en el momento de la elaboración, si éstas se van a ver significativamente modificadas antes de su uso.

Dentro del programa general de desarrollo de nuevos fármacos corresponde al desarrollo galénico la elaboración de formas farmacéuticas destinadas a su administración por una vía determinada (1). Esta adecuación de una sustancia activa a una vía de administración implica, atendiendo a la Ley del Medicamento (2), el dotarla de aquellas propiedades que garanticen la seguridad y eficacia en su utilización, lo que se consigue mediante su correcta formulación y elaboración, un estricto control, garantizando un periodo de validez y asegurando una adecuada administración.

Para cumplir este objetivo, en el desarrollo galénico se aplica armónica y secuencialmente un conjunto de conocimientos, métodos y procesos, de forma que los resultados obtenidos en cada etapa del desarrollo sirvan de base y punto de partida de la siguiente.

En la primera etapa o etapa de investigación bibliográfica se recopilan todos los aspectos ya conocidos de la molécula que permitirán definir los objetivos del programa de formulación quedando establecidas

las formas de dosificación a desarrollar.

En la segunda etapa o etapa de preformulación se estudia en profundidad el principio activo como tal materia prima y las alteraciones físicas y/o químicas que se puedan producir al asociarlo con sustancias auxiliares que más frecuentemente se emplean en la elaboración de una forma farmacéutica.

Con los datos aportados en esta fase se plantea y ejecuta la tercera etapa o etapa de formulación. Previa elección de las sustancias auxiliares y del proceso tecnológico, se elaboran diversas formas de dosificación de las que, mediante los ensayos correspondientes "in vitro" se seleccionan aquellas que cumplan todas y cada una de las especificaciones.

Con las formas seleccionadas se realizan nuevos ensayos "in vitro" y ensayos "in vivo" que confirmen las perspectivas de estabilidad y de biodisponibilidad, buscándose posibles correlaciones entre parámetros. Con esta etapa de selección de la formulación definitiva se finaliza el desarrollo galénico.

La estabilidad es, por tanto, un criterio básico para la selección de una forma de dosificación definitiva y la realización de los estudios pertinentes corre a cargo del Departamento de Desarrollo Galénico.

La presente memoria forma parte de un amplio programa de desarrollo galénico de formas farmacéuticas sólidas de administración oral de dos nuevas moléculas anticancerosas: MITONAFIDE (CAS 54824-17-8) y AMONAFIDE (CAS 69408-81-7), sintetizadas en España por los Laboratorios Knoll S.A. Su **OBJETIVO** es realizar un estudio de estabilidad comparada de comprimidos de cada una de estas dos sustancias, con el fin de determinar, de forma racional, con qué formulación y técnica de elaboración se obtienen comprimidos más estables, desde el punto de vista físico, químico y biofarmacéutico. Los resultados obtenidos son imprescindibles para la selección, en cada caso, del medicamento con el que se procederá al paso a escala

Industrial.

Para poder hacer un planteamiento experimental acorde con el objetivo de este trabajo de investigación es necesario, previamente, llevar a cabo una recopilación de la información existente. Esta información procede, por un lado, de los resultados obtenidos en la ejecución del programa general de desarrollo de las moléculas y, por otro lado, de los datos obtenidos en las etapas anteriores del desarrollo galénico de estas dos sustancias, recogidos en la Memoria de Licenciatura y en la Tesis Doctoral de Dña. Ana Isabel Torres Suárez. Así, se alcanza una idea global de los antecedentes.

A continuación se aborda la planificación del trabajo experimental:

1.- Elaboración de los comprimidos con Mitonafide y Amonafide.2HCl seleccionados en etapas anteriores. Difieren entre sí en composición y/o técnica de elaboración.

2.- Validación de un método analítico por cromatografía líquida de alta resolución para la valoración en cada tipo de comprimido del Mitonafide o del Amonafide.2HCl.

3.- Planteamiento de los estudios de estabilidad. Con el fin de cubrir el objetivo de la memoria se proyecta:

* la caracterización de los comprimidos recientemente preparados.

* un estudio de estabilidad de envejecimiento acelerado, evaluándose el efecto de la humedad relativa ambiental a temperatura constante. Las condiciones de almacenamiento son : 45°C-45% de humedad relativa y 45°C-75% de humedad relativa.

* un estudio de estabilidad de envejecimiento acelerado, evaluando el efecto de elevadas temperaturas. Las condiciones de almacenamiento son isotérmicas, empleándose cuatro temperaturas: 60, 70, 80 y 90°C.

* un estudio de estabilidad de envejecimiento natural.

II. PARTE TEORICA

ESTABILIDAD DE FORMAS FARMACEUTICAS SOLIDAS: COMPRIMIDOS

1. DEFINICION Y OBJETIVOS DE LOS ESTUDIOS DE ESTABILIDAD.

En la Farmacopea de los Estados Unidos edición 23 (USP23) se define la estabilidad como la propiedad por la cual un producto mantiene las características que poseía en el momento de su preparación durante todo su período de almacenamiento y uso, dentro de los límites específicos (3).

Las características que identifican a un medicamento son:

- Físicas: propiedades galénicas inherentes a la forma farmacéutica.
- Químicas: identidad, pureza, contenido en principio activo.
- Microbiológicas o Biológicas:
 - condición de esterilidad, requerida por ciertas formas farmacéuticas.
 - contenido mínimo de microorganismos.
- Toxicológicas: toxicidad sistémica o local.
- Terapéuticas: eficacia, potencia, seguridad.

Estos cinco grupos están relacionados entre sí, frecuentemente una alteración de alguna de las características conduce a una alteración de las demás (4).

En cada uno de estos cinco tipos de características existen diferentes criterios para fijar los niveles aceptables o los márgenes de sus valores, entre los que deben mantenerse durante todo el periodo de validez del medicamento. Estos "límites específicos" o "especificaciones" están indicados, a veces, en las farmacopeas. Si no lo están cada preparador establece estos límites.

Razones legales, éticas y económicas justifican la verificación de la estabilidad de los medicamentos.

Los objetivos fundamentales de los estudios de estabilidad de medicamentos son (5):

- Determinar cómo varía la calidad de un medicamento dependiendo del tiempo y bajo la influencia de una serie de factores medioambientales.

- Poder recomendar un periodo de validez para toda especialidad y conseguir que éste sea lo más dilatado posible.
- Poder recomendar las condiciones de conservación y de utilización.
- Establecer las especificaciones que garanticen la calidad del medicamento durante el periodo de validez.

La efectividad de todo estudio de estabilidad se alcanza únicamente cuando la investigación bibliográfica o teórica previa se complementa con la comprobación experimental correspondiente (6).

1.1. INESTABILIDAD FISICA.

Se denomina inestabilidad física a la alteración de las características galénicas de las formas farmacéuticas.

Determinar la inestabilidad física tiene un objetivo mayor que simplemente satisfacer al consumidor: asegurar la biodisponibilidad del principio activo y por tanto el efecto terapéutico (7,8).

Ciertos cambios en las características físicas durante el almacenamiento pueden ser tan trascendentales como la descomposición química.

La inestabilidad física se puede acelerar. Aunque los datos obtenidos en un envejecimiento acelerado no son útiles para determinar el periodo de validez porque no existe relación entre el agente externo y la intensidad de la alteración, son de gran utilidad en estudios de formulación y para establecer la "robustez" del producto y su capacidad para resistir las condiciones de las distintas variedades climatológicas durante su transporte y almacenamiento.

1.2. INESTABILIDAD QUIMICA.

Se denomina inestabilidad química de un medicamento a la descomposición de un principio activo durante el periodo de almacenamiento, con la consiguiente disminución de su concentración en el medicamento y aparición del producto o productos de degradación (9).

La descomposición de un principio activo tiene lugar a través de reacciones químicas, siendo las principales: hidrólisis, oxidación, fotólisis, racemización, descarboxilación, polimerización, descomposición enzimática y reacción de Maillard. Las cinéticas más comunes de las reacciones son de orden cero, primer orden o pseudo-primer orden (10).

Muchas de estas reacciones cursan con lentitud por lo que, frecuentemente, se emplean para su estudio condiciones extremas de almacenamiento que permitan realizar, de forma rápida, una previsión de la estabilidad en condiciones normales. Ahora bien, la observación de que el contenido en principio activo cumple las especificaciones en el estudio de estabilidad acelerado solamente proporciona información limitada del periodo de validez del medicamento (11).

Las características químicas que se determinan en producto terminado son: contenido en principios activos y, en situaciones especiales, productos de descomposición y otros agentes (antimicrobianos, antioxidantes, etc.).

1.3. INESTABILIDAD BIOLÓGICA.

Se denomina inestabilidad biológica de un medicamento al desarrollo de microorganismos (bacterias, hongos, levaduras) en su seno.

La alteración del medicamento por esta vía puede conducir a un aumento de la toxicidad y a inestabilidad física y química subsidiarias.

Su estudio trata habitualmente de comprobar la ausencia de desarrollo microbiano en las unidades.

1.4. INESTABILIDAD TOXICOLOGICA.

Se denomina inestabilidad toxicológica de un medicamento al incremento significativo de la toxicidad en el mismo.

Una característica a tener en cuenta es la acción farmacológica y tóxica de los productos de degradación. Para medicamentos conteniendo principios activos cuyos productos de degradación presenten elevada toxicidad o acciones farmacológicas distintas, la especificación de riqueza deberá ser más rígida que para medicamentos sin este inconveniente y habrá que establecer la oportuna especificación para la cantidad de producto de descomposición.

1.5. INESTABILIDAD TERAPEUTICA.

Se denomina inestabilidad terapéutica de un medicamento a la alteración de su efecto.

La finalidad de todo medicamento es la terapéutica. Por ello el criterio ideal para establecer su periodo de validez sería el criterio terapéutico evaluado a través del estudio de biodisponibilidad y su posible variación en el tiempo, entendiéndose por biodisponibilidad la posibilidad del principio activo de alcanzar los lugares de acción a la concentración y en el tiempo previstos. Distintas razones obligan, en la práctica, a estudiar la estabilidad de las características físico-químicas y microbiológicas de la forma farmacéutica más que la de la propia biodisponibilidad. Así, la estabilidad de la biodisponibilidad

constituye una comprobación a efectuar solamente sobre las formas que hayan superado el estudio de estabilidad de las características anteriores.

La biodisponibilidad está condicionada, evidentemente, por la cantidad de principio activo administrada, pero también por las características físicas de la forma farmacéutica. Se pone así de manifiesto que la atribución de un plazo de validez debe atender tanto a la estabilidad química como a la estabilidad física. Concretamente, la USP 23, al definir el término de estabilidad respecto a una forma de dosificación, se refiere a la integridad química y física de la unidad de dosificación, y, cuando sea oportuno, a la capacidad de la misma de mantener la protección contra la contaminación microbiológica (12).

En la forma farmacéutica COMPRIMIDOS, las características físicas a evaluar son: forma, peso, color, resistencia a la fractura, friabilidad, tiempo de disgregación y perfiles de disolución.

Se han definido distintas rutas de inestabilidad física en comprimidos, que implican uno o más procesos físicos o físico-químicos complejos: cambios de estado (fusión, solidificación, sublimación), fenómenos de equilibrio entre fases (delicuescencia, eflorescencia, higroscopicidad, evaporación), fenómenos de superficie (adsorción), fenómenos intramicelares (polimorfismo, cristalización, solvatación) y fuerzas intermoleculares (fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno) (13).

En cuanto a la estabilidad química de comprimidos, hay que considerar que el mecanismo de degradación en estado sólido es, generalmente, complejo y difícil de dilucidar (14).

2. CAUSAS DE INESTABILIDAD DE COMPRIMIDOS.

Son muchas las posibles causas de alteración de las características físicas, químicas o biológicas que presentan las formas farmacéuticas sólidas, la mayoría de ellas comunes a los 3 tipos de inestabilidad.

Los factores causantes de esta alteración inciden durante la formulación, manufactura y/o conservación del medicamento.

Se denominan factores de inestabilidad **INTRINSECOS** a aquellos que se corresponden con las variables de la formulación (solubilidad, higroscopicidad,...) y con las variables del proceso (contenido en agua,...), y **EXTRINSECOS** a los relacionados con las variables de envejecimiento (humedad, temperatura,...).

2.1. FACTORES INTRINSECOS.

La formulación y el método de elaboración afectan a las propiedades de los comprimidos y entre estos factores hay un alto grado de interrelación (15), como lo demuestra, entre otros muchos, el estudio realizado por Matsunaga y col. (16) sobre los efectos del contenido en agua en la estabilidad física y química de comprimidos con un agente anticanceroso (TAT-59). Se elaboraron comprimidos con principio activo y excipientes, y comprimidos con el principio activo solo. También se evaluó el comportamiento del principio activo en polvo. Se observó que solamente aumentó el contenido en agua con la humedad relativa ambiental en los comprimidos de principio activo y excipientes, disminuyendo y aumentando linealmente su resistencia a la fractura y su porosidad respectivamente. En este caso, la formulación influyó decisivamente en la estabilidad física. Ahora bien, se encontró que la degradación del principio activo se incrementó con la compresión y la adición de excipientes.

Se han propuesto diferentes métodos (17,18) para evaluar la influencia de estos factores intrínsecos en la estabilidad de comprimidos, tratando de conseguir la máxima información con el mínimo

trabajo experimental.

2.1.1. Elementos de Formulación.

La elaboración de comprimidos de un fármaco conlleva, habitualmente, la utilización de diferentes sustancias auxiliares.

Los excipientes pueden influir enormemente en la calidad de un producto, ya sea en relación a su biodisponibilidad o en cuanto a su estabilidad (19).

En principio, no poseen actividad terapéutica, pero pueden modificarla por su influencia sobre la biodisponibilidad de los fármacos (20). Esta influencia está perfectamente documentada en la bibliografía y ha sido una de las causas desencadenantes del problema de las bioinequivalencias entre medicamentos de diferentes orígenes comerciales.

Para desarrollar preparaciones farmacéuticas estables se debe estudiar el comportamiento de sus componentes frente a la acción de agentes ambientales (humedad y temperatura, principalmente), así como la incidencia del mismo sobre la estabilidad de las propiedades físicas, químicas y biológicas del medicamento. Especialmente, el comportamiento de los diluyentes, ya que por estar presentes en elevada proporción en la forma farmacéutica tienen gran importancia en la estabilidad.

Destacan dos aspectos del comportamiento de los excipientes de comprimidos respecto a la acción del agua.

El primero es su higroscopicidad. Se ha demostrado que la naturaleza hidrofílica de los excipientes presentes es el factor principal en el fenómeno de captación de agua. Esta naturaleza es propia de los disgregantes (21,22). Por el contrario, los excipientes hidrófobos, como son los lubricantes, retardan la absorción y desorción de agua al recubrir la superficie de los comprimidos (23). Los aglutinantes hidrosolubles pueden presentar un comportamiento

delicuescente a humedades relativas elevadas (24).

El segundo es la forma en la que se encuentra el agua contenida por los excipientes, siendo más importante que la cantidad de agua que tienen (25).

Cuando se emplee un excipiente hidratado o con agua de cristalización hay que prestar atención a las condiciones bajo las cuales cede ese agua. El Emcompress (fosfato dicálcico dihidratado) se comporta como un sólido húmedo a 25°C, en un margen de humedad relativa ambiental entre el 10 y el 85%. Sin embargo, a temperaturas por encima de 40-45°C, su deshidratación está catalizada por la humedad ambiental (26). La deshidratación es irreversible y el principal producto de su descomposición, independientemente de las condiciones drásticas de almacenamiento, es la forma deshidratada (27).

Respecto a la temperatura, la lactosa monohidrato destaca por ser muy estable a temperaturas por debajo de los 90°C.

El Emcompress, como ya se ha comentado, cede agua por encima de los 40-45°C. Esto puede aumentar el riesgo de incompatibilidades a elevadas temperaturas, en los casos que el agua cedida interaccione con el principio activo u otros excipientes. Extrapolar estos hechos a temperatura ambiente sería erróneo ya que no se deshidrata a esta temperatura.

El estearato magnésico, como otros muchos lubricantes, funde a elevadas temperaturas, ejerciendo un efecto impermeabilizante sobre los comprimidos.

Aunque todos los excipientes utilizados sean compatibles con el principio activo pueden afectar a la estabilidad de los comprimidos.

El contenido inicial de agua de los componentes de la formulación, la cantidad de agua en la masa compacta y la ganancia o pérdida de agua de los comprimidos durante el almacenamiento, tienen un efecto significativo sobre la estabilidad física de los mismos y pueden tenerlo también en la velocidad de degradación del principio activo (28,29).

En cuanto a la *estabilidad física*, el posible oscurecimiento de los comprimidos debido a la temperatura de almacenamiento sigue una cinética de orden cero o de primer orden dependiendo del principio activo y de la formulación del comprimido (30). La lactosa toma una coloración marrón durante su almacenamiento, siendo más rápido el proceso en condiciones cálidas y húmedas. El Avicel evita el moteado de la superficie hasta un 25% de contenido en agua, por ello, confiere estabilidad de color a los comprimidos.

Ablandamientos de comprimidos pueden estar asociados a interacciones químicas. Numerosos ácidos cuando se comprimen con Avicel sufren una interacción que conduce a la formación de monóxido de carbono, causa del desmoronamiento de los comprimidos. Esta interacción es rápida e intensa a 55°C. A temperatura ambiente el efecto es considerablemente menor aunque significativo (31).

En general, la resistencia a la fractura de comprimidos elaborados con excipientes higroscópicos disminuye cuando se mantienen en ambientes de elevada humedad relativa. El Avicel proporciona comprimidos que se pueden ablandar de forma reversible cuando se almacenan bajo estas condiciones de humedad (32).

La resistencia a la fractura de los comprimidos con Emcompress se ve muy afectada por las condiciones de almacenamiento, ya que estas influyen en la posibilidad de su deshidratación.

El cambio en la resistencia a la fractura que experimentan con el tiempo de almacenamiento los comprimidos que contienen almidón se debe, en algunos casos, a la humedad por él cedida (contenido en agua 10-15%) a otros ingredientes. El cambio en la resistencia a la fractura tendrá lugar en un tiempo igual al tiempo que tarde en equilibrarse la humedad del comprimido. Comprimidos con elevada concentración de almidón se ven influenciados en gran medida por el almacenamiento con distintas condiciones de humedad relativa. Bajo un 45% de humedad y temperatura entre 20 y 40°C aumenta su resistencia a la fractura, sin embargo, en condiciones de elevada humedad relativa (75%) e igual temperatura

disminuye. Sorprendentemente este hecho no tiene efecto significativo sobre el tiempo de disgregación. Algo similar ocurre con la crospovidona, porque su acción disgregante no se ve casi afectada por el endurecimiento de los comprimidos.

Como ya se ha visto, a elevadas temperaturas, lubricantes como el estearato magnésico tienen un efecto impermeabilizante, aumentando el tiempo de disgregación de los comprimidos.

Los elementos de la formulación también afectan a la estabilidad de la velocidad de disolución de un producto durante su envejecimiento (33). La influencia del envejecimiento sobre las propiedades físicas del comprimido y el perfil de solubilidad, dependen, en gran medida, del tipo de excipiente utilizado y no siempre los valores son correlacionables entre sí (34). En unos comprimidos con Emcompress, obtenidos por compresión directa, ni el peso medio, ni sus dimensiones, ni la resistencia a la fractura, ni la friabilidad se modifican con el tiempo, mientras que la cesión del principio activo sí se modifica (35). Por el contrario, la interacción entre principio activo y excipiente puede afectar al tiempo de disgregación, pero no necesariamente a la velocidad de disolución (36).

El seguimiento del proceso de disolución se hace más difícil en formulaciones en las que, a la atenuación del proceso de disolución se une la aparición de un periodo de latencia.

La movilidad del agua en el comprimido afecta a su *estabilidad química* tanto en magnitud como en velocidad.

Por un lado, hay que considerar el paso del agua por deshidratación de un componente a otro componente del comprimido de naturaleza hidrofílica, sabiendo que este agua tiende a permanecer condensada en los sitios libres de estos últimos. Así, una hipótesis de posible descomposición del principio activo es que se disuelva en el agua libre acumulada. Por eso, la deshidratación del Emcompress puede provocar inestabilidad química. Esta hipótesis es apoyada por la ausencia de periodo de latencia en las curvas de degradación del ácido

acetil salicílico en comprimidos con Encompress almacenados a 55°C y 22% de H.R. (18). En este sentido, los derivados de celulosa como el Avicel son excipientes estabilizadores porque captan la humedad del comprimido, disminuyendo la cantidad de agua libre del sistema disponible para la interacción del principio activo (37); y los disgregantes son desestabilizadores ya que tienden a mantener el agua condensada en sitios libres.

Por otro lado, se debe tener en cuenta el agua captada por los comprimidos como consecuencia de la naturaleza hidrofílica o higroscópica de sus componentes. La velocidad de degradación del cefalotín aumenta con el aumento del contenido en agua del almidón de maíz (38). En otro estudio, ya mencionado, se demuestra que la degradación del principio activo (TAT-59) se acelera con la adición de excipientes hidrofílicos.

En cuanto a la estabilidad biológica, cabe decir que algunos excipientes como la lactosa monohidrato favorecen el crecimiento de mohos cuando se almacenan en condiciones de humedad relativa mayor o igual al 80%.

La variabilidad lote-lote, fabricante-fabricante de los excipientes puede afectar a la estabilidad de los comprimidos (39-41). Comparando dos celulosas microcristalinas de distintos fabricantes se observan cambios estadísticamente significativos en la resistencia a la fractura de los comprimidos obtenidos con una de ellas, mientras que la resistencia a la fractura de los comprimidos con la otra no se modifica a lo largo del almacenamiento. El grado de hidrólisis del almidón puede variar de un lote a otro, por eso el uso de uno u otro puede cambiar la estabilidad del comprimido frente a la humedad.

2.1.2. Proceso tecnológico.

Los procesos tecnológicos utilizados hoy para la fabricación de comprimidos se clasifican en dos grandes grupos: los métodos por vía húmeda (granulación por vía húmeda y procedimientos especiales) y los métodos por vía seca (granulación por compresión y compresión directa). Su elección está subordinada a la obtención de una forma de dosificación que cumpla los siguientes requisitos: precisión en la dosificación del principio activo, adecuada disponibilidad fisiológica de la sustancia medicamentosa y máxima estabilidad (42), sin olvidar el aspecto económico.

Gran parte de las alteraciones de las propiedades físicas y/o químicas de los comprimidos están ligadas a la ganancia o pérdida de agua durante el almacenamiento. El alcance de este fenómeno depende de la cantidad de agua presente en el momento de la preparación, que a su vez está en función, entre otros factores, de la técnica de elaboración.

"A priori", los métodos por vía seca presentan ventajas frente a los métodos por vía húmeda en cuanto a la estabilidad se refiere, porque, como su nombre indica, evitan la humedad y la aplicación de calor; pero también se debe considerar que con ellos se obtienen comprimidos en los que el principio activo puede estar más accesible a la acción directa de los factores ambientales de inestabilidad (43), y, por otro lado, el ciclo de secado en los métodos por vía húmeda permite conseguir un granulado con muy bajo contenido en humedad, reduciendo así los riesgos de inestabilidad. Bien es cierto, que el secado del granulado puede provocar la migración de principios activos hidrosolubles hacia la superficie (este riesgo es menor cuanto más rápido y uniforme sea el secado) y que los productos de degradación formados como consecuencia de una temperatura elevada durante el secado pueden catalizar la posterior degradación del principio activo a la temperatura normal de almacenamiento (reacciones autocatalíticas).

La porosidad del comprimido está relacionada con la posibilidad

de difusión del agua y por tanto con la estabilidad de la forma farmacéutica (44). Los gránulos obtenidos por compresión (vía seca) son menos porosos que los obtenidos por granulación por vía húmeda y, dentro de éstos, los obtenidos por tamización son menos porosos que los preparados por paso a través de discos perforados, además, la porosidad es mayor cuanto menor sea la luz de malla de los tamices o discos.

Los comprimidos obtenidos por compresión directa muestran diferencias considerables de comportamiento en cuanto a la modificación de su resistencia a la fractura durante el almacenamiento por las variaciones en el contenido en agua. Sin embargo, se encuentran menores diferencias entre los comprimidos obtenidos previa granulación por vía húmeda respecto a los cambios en su resistencia a la fractura como función de la adsorción de agua, almacenados bajo las mismas condiciones.

Numerosos trabajos publicados demuestran que el contenido en agua del granulado obtenido por vía húmeda influye decisivamente en las variaciones de la resistencia a la fractura de los comprimidos durante su almacenamiento producidas por intercambios de humedad. Los comprimidos obtenidos a partir de granulados con elevado contenido en agua ven incrementada su resistencia a la fractura durante el almacenamiento y la magnitud de este incremento depende de factores como la solubilidad en agua, higroscopicidad y otras propiedades físicas del fármaco y excipientes; en algunos de estos estudios se encuentra que la velocidad de disolución no se modifica. Cuando los granulados presentan bajo contenido en agua, los comprimidos resultantes sufren, normalmente, pocos cambios en la resistencia a la fractura durante el almacenamiento, observándose una fuerte dependencia entre velocidad de disolución y dureza inicial.

En los comprimidos puede tener lugar una transformación polimórfica cuando el sólido está sujeto a elevadas presiones en las máquinas de comprimir. A partir de determinada presión se puede favorecer la transformación de una forma a otra de densidad más elevada

con consecuencias en fenómenos físicos tiempo-dependientes de los comprimidos (45-47). A veces, una compresión por vía seca exige presiones altas de compresión.

Factores del proceso tecnológico influyen o afectan a la estabilidad de la cesión de un producto durante el envejecimiento de los comprimidos que lo contienen. La compresión directa confiere una mayor estabilidad en la velocidad de disolución de los comprimidos con el envejecimiento porque hay menos factores que puedan influir, al ser liberado el principio activo de la masa del comprimido y no del gránulo. Cuando se emplea la granulación por vía húmeda, la velocidad de disolución suele disminuir con el tiempo de almacenamiento.

El proceso de compresión es, por sí mismo, un factor de inestabilidad química. Al estudiar la estabilidad del TAT-59 en polvo y comprimido se observó que la degradación del principio activo se aceleró con la compresión.

Aunque el contenido inicial en agua de la masa compacta sea elevada, si la cesión de este agua depende de la temperatura, la estabilidad química del principio activo puede que no se vea comprometida por esta causa, ya que a temperatura ambiente, la mayor parte del agua puede que no esté disponible para reaccionar con el principio activo. Ahora bien, la velocidad de degradación del principio activo aumentará con el aumento de la temperatura y con el tiempo (48).

Mediante la granulación es mayor el riesgo de que se produzcan incompatibilidades entre principio activo y excipientes.

La compresión directa presenta ventajas desde el punto de vista de la *calidad microbiológica*, no sólo por la cantidad de agua de la masa compacta, sino porque implica un menor número de operaciones y manipulaciones.

2.1.3. Material de acondicionamiento.

Se ha visto que puede permitir la ganancia o pérdida de agua con todas sus consecuencias: estabilidad química, cambio de color de los comprimidos a largo plazo, estabilidad de la velocidad de disolución de un producto durante su envejecimiento, ... Por eso, en la fase de formulación de toda nueva especialidad debe estudiarse el envase más adecuado para la forma farmacéutica y, en todo caso, el estudio definitivo de la estabilidad debe hacerse siempre sobre el medicamento acondicionado en el envase definitivo.

Por supuesto, el propio envase debe mantenerse intacto durante toda la vida del medicamento, por ejemplo, respecto a la permeabilidad.

2.2. FACTORES EXTRINSECOS: Factores ambientales.

La finalidad de los estudios de estabilidad es determinar cómo varía la calidad de un medicamento dependiendo del tiempo y bajo la influencia de una serie de factores medioambientales: temperatura, aire, humedad, luz, microorganismos, ...

Existe una estrecha relación entre ellos: la humedad, aparte de su propia acción hidrolizante, favorece las demás reacciones, fundamentalmente las de oxidación (el oxígeno atmosférico disuelto en el agua es más activo que en estado gaseoso) y otras acciones catalíticas de algún componente, y su presencia es necesaria para el desarrollo de microorganismos.

El aire oxida, el calor favorece las alteraciones químicas, la luz acelera igualmente reacciones que, en su ausencia, se producirían con ínfima velocidad.

A través de un diseño factorial se demuestra que una humedad relativa ambiental y una temperatura elevadas son los factores desestabilizadores predominantes en las formas farmacéuticas sólidas, y, en muchos casos, la humedad es un factor de inestabilidad de comprimidos más eficaz que la temperatura (49). Humedad y temperatura presentan un sinergismo, acentuando o acelerando los efectos que producen por separado (50-52), lo que hace especialmente difícil la conservación de formas farmacéuticas sólidas en países tropicales.

En las sustancias higroscópicas, la humedad del sólido y la *humedad ambiental* están relacionadas, por ello se habla de la humedad de equilibrio cuando el agua que contiene el sólido posee una tensión superficial igual a la que tiene el agua libre ambiental en las mismas condiciones de presión y temperatura.

Una mezcla de sustancias es, generalmente, más sensible a la humedad que cada una de ellas por separado.

Los efectos adversos del almacenamiento en condiciones de humedad relativa (H.R.) elevada han sido objeto de varios estudios.

Los comprimidos al adsorber agua del ambiente pueden aumentar de peso, aumentar de tamaño, y puede disminuir su resistencia a la fractura. Otras veces, se endurecen debido a que el agua provoca una recristalización de un componente, normalmente hidrosoluble; en este caso es más importante este hecho que los cambios en sí de la resistencia a la fractura del comprimido.

Se debe tener en cuenta la humedad crítica (humedad relativa ambiental a partir de la cual se manifiesta un determinado fenómeno). Así, se observó que el diámetro y el espesor de comprimidos de sacarosa disminuían con el almacenamiento al aumentar la humedad relativa y por encima de la humedad crítica (84%) aumentaban repentinamente. Lo mismo ocurría con la resistencia a la fractura, pero en sentido contrario (53).

La porosidad de los comprimidos se modifica linealmente con el aumento en contenido en agua consecuencia del aumento de la humedad

relativa ambiental. Puesto que la porosidad regula la penetración del líquido de ataque en el comprimido, esta característica constituye el factor limitante de la disgregación y la cesión del principio activo. En algunos artículos recopilados por Carstensen (43) se demuestra que existe una correlación directa entre la modificación en la porosidad y la velocidad de disolución de los comprimidos, aún cuando no se observe una relación aparente o patente entre disolución y disgregación del mismo. Incluso se afirma que si la disgregación y la disolución se alteran durante el almacenamiento, esta alteración es función del cambio de porosidad, si ésta se modifica con el tiempo de almacenamiento.

Por otro lado una cesión de agua por parte del comprimido al medio produce una disminución en el peso y un incremento de la resistencia a la fractura.

Las variaciones térmicas constituyen el factor más eficaz y más permanente de degradación química de medicamentos. Efectivamente, el aumento de la temperatura acelera prácticamente todos los procesos degradativos. En pocos casos la influencia de la temperatura sobre la velocidad de reacción es escasa (reacción fotolítica, pirolítica,...).

La temperatura influye en la movilidad del agua contenida en el comprimido pudiendo generar un efecto adverso sobre la estabilidad química del principio activo. Hay que tener en cuenta que con principios activos higroscópicos puede producirse una transferencia de agua en el interior de las formas sólidas a partir del agua contenida en los excipientes, en función de la temperatura ambiente. Este fenómeno tiene mucha mayor importancia para la estabilidad química del principio activo que para la estabilidad física.

El calor altera las características galénicas de los comprimidos a través de mecanismos como fusión, evaporación, desecación...

Hay numerosos estudios que tratan de la influencia de la temperatura en la estabilidad del color de los comprimidos, siendo el efecto más común el oscurecimiento de los mismos.

Las variaciones periódicas de la temperatura ambiental modifican

la tensión de vapor del agua en todo compartimento estanco y ello es causa de que se produzca un continuo trasiego de agua del medicamento a la cámara de aire del envase comercial y viceversa; esta migración desordenada conduce al desplazamiento de colorantes, principio activo y, en general, de productos solubles, evidenciándose la correspondiente alteración física.

El oxígeno interviene en todas las reacciones de oxidación y, como ya se ha advertido anteriormente, es más activo en disolución que en estado gaseoso.

Hay un gran número de principios activos sensibles a la luz. Estos principios activos una vez incluidos en la forma farmacéutica y envasados con un material adecuado están protegidos de la fotodegradación, pero se deben tener en cuenta aquellos períodos de tiempo en los que no existe esta protección: durante el proceso de manufactura y durante su manipulación por el usuario.

Las reacciones fotoquímicas son independientes de la temperatura del sistema y su velocidad depende del espectro de emisión y de la intensidad de la luz incidente. Dado que hay más energía radiante a bajas longitudes de onda, la alteración del principio activo es debida, generalmente, a la absorción de luz de longitud de onda entre 400 y 200nm. La luz también puede catalizar otras reacciones (racemizaciones,...).

La acción de la luz también se traduce en un cambio de color. Cuando hay una decoloración de la forma farmacéutica en breve tiempo se asume que la causa fundamental es una fuente de iluminación exagerada. Cuando se observa un cambio de color a largo plazo, este cambio se atribuye a los efectos de otras causas (54).

En formas farmacéuticas sólidas puede generarse un crecimiento microbiano, favorecido, como ya se ha indicado, por el efecto de la humedad. Afecta a la estabilidad biológica, física y química (producción de enzimas por parte del microorganismo).

III. PARTE PRACTICA

1. ANTECEDENTES.

1.1. PRINCIPIOS ACTIVOS.

La presente memoria, como ya se ha dicho anteriormente, forma parte de un amplio programa de desarrollo de dos nuevas moléculas anticancerosas: MITONAFIDE (CAS 54824-17-8) y AMONAFIDE (CAS 69408-81-7), sintetizadas en España por los Laboratorios Knoll S.A. (55-57).

En 1973, los Laboratorios MADE S.A. (actualmente, Laboratorios Knoll S.A.) sintetizaron un nuevo fármaco del grupo de las 1,8 naftalimidias: MITONAFIDE (Figura 1). Su extraordinaria acción inhibitoria de la replicación celular (58-60) indujo la síntesis de otros análogos estructurales (61). El National Cancer Institute de los Estados Unidos seleccionó a uno de ellos por presentar actividad citostática frente a diferentes tumores experimentales (leucemias P388 y L1210, melanoma B16 y carcinoma de colon C872) (62-64). El nombre asignado a este compuesto es el de AMONAFIDE (Figura 1).

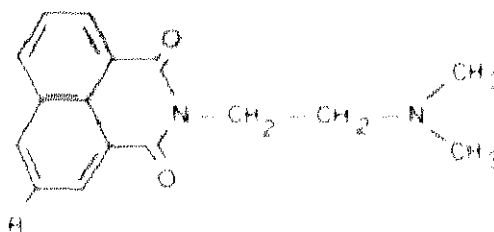


Figura 1. Estructura química de Mitonafide (R: -NO₂) y Amonafide (R: -NH₂).

La inhibición del crecimiento tumoral es debida a una actuación sobre el ritmo mitótico: ambas moléculas actúan como agentes intercalantes, formando complejos con el DNA y produciendo su inactivación (61-69).

Como tales fármacos citostáticos, su manejo ha de estar sujeto a especiales precauciones dado que, en general, son moléculas con elevada probabilidad mutagénica.

El programa de desarrollo de estas sustancias se encuentra en la fase de ensayos clínicos (70-82), realizados íntegramente en nuestro país en el caso del Mitonafide y en Estados Unidos en el caso del Amonafide. Este ha superado con éxito la fase I, en enfermos terminales con neoplasias sólidas, administrado por vía intravenosa en perfusión continua (24 horas) cada 4 semanas. Actualmente, se está desarrollando la fase II, administrado en dosis de 300 mg/m^2 por vía intravenosa en perfusión continua (1 hora) durante 5 días consecutivos, pudiéndose repetir cada 3 semanas. Se ha estudiado la actividad del Amonafide frente a sarcomas avanzados, cáncer de mama con metástasis, adenocarcinoma colorrectal avanzado, carcinoma de cervix, melanoma maligno diseminado, cáncer avanzado de páncreas, cáncer de epitelio de ovario, observándose que no presenta una eficacia adecuada debido a la baja respuesta y a la elevada toxicidad. Los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama que no habían recibido ningún tratamiento quimioterápico paliativo anteriormente, siendo la respuesta del 25% del total de los casos. Los efectos colaterales más frecuentes son de tipo hematológico (granulocitopenia), náuseas o vómitos. El programa de desarrollo del Mitonafide está más retrasado.

Estas dos sustancias han servido de base para la síntesis de análogos bis-intercalantes o bis-naftalimidados, los cuales presentan mayor actividad. Uno de ellos ya ha sido seleccionado para estudios "in vivo" (83,84). Por otro lado, el Amonafide presenta metabolitos activos, los cuales también son objeto de investigación (85).

Paralelamente a los ensayos clínicos se empezó el desarrollo galénico de estos fármacos, realizándose en su totalidad en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.

Los estudios realizados en preparados líquidos de administración parenteral (utilizados en los estudios preclínicos y clínicos) proporcionaron datos que facilitaron la elección del método analítico

e información sobre la estabilidad de las dos sustancias nuevas.

Se pusieron a punto y validaron dos métodos analíticos: espectrofotometría UV-Vis y cromatografía líquida de alta resolución (H.P.L.C.) para la valoración de Mitonafide y Amonafide como tales materias primas (86). El método espectrofotométrico no resulta adecuado en los estudios de estabilidad por su falta de especificidad.

Se observó la elevada fotolabilidad del Mitonafide frente a las radiaciones del UV, especialmente frente a las radiaciones UVA (luz solar directa), pero la mayor estabilidad de la molécula frente a la luz artificial (visible) permite llevar a cabo la administración en perfusión, con iluminación artificial, sin tomar precauciones especiales (87); ahora bien, se ha de evitar la utilización de radiaciones UV germicidas en las salas estériles donde se elaboren los preparados de administración parenteral. Por el contrario, el Amonafide se presentó como una molécula fotoestable (88).

Ambas sustancias presentaron una alta estabilidad en disolución. Los valores de t_{90} calculados a partir de la ecuación de Arrhenius fueron de 6,38 años para el Mitonafide y de 4,40 años para el Amonafide (89).

La elevada biodisponibilidad oral que presentaron ambas sustancias administradas en solución (90,91) tuvo como consecuencia el planteamiento del desarrollo galénico de formas farmacéuticas sólidas de administración por vía oral (comprimidos y cápsulas).

Se planteó el diseño de comprimidos (92,93), con una dosis de 200 mg de Amonafide base o 100 mg de Mitonafide. En los estudios de preformulación se observó la baja densidad aparente del Amonafide base, debido parcialmente a su presentación en forma de láminas, lo que originaba problemas de manipulación, incluso en operaciones básicas como su transporte o pesada; por eso, no se consideró como una materia prima adecuada para su transformación industrial a formas farmacéuticas y fue necesario reemplazarla por la sal diclorhidrato.

De los resultados de los estudios de preformulación cabe destacar, por su incidencia en el planteamiento del presente trabajo:

1.- La viabilidad, desde el punto de vista biofarmacéutico (94), de la forma farmacéutica propuesta para estos dos citostáticos: comprimidos.

El Mitonafide es una molécula muy estable en disolución acuosa con valores de pH semejantes a los que, en condiciones fisiológicas, se alcanzan en las partes superiores del tracto gastrointestinal. A estos valores de pH, el Amonafide.2HCl es menos estable, pero el valor de t_{90} calculado a 37°C y pH=1,5 (95,72 días) hace prever que este hecho no comprometerá su biodisponibilidad oral.

La rápida disolución del Mitonafide en medios de valores de pH inferiores a 4 unidades (70% disuelto en menos de 5 minutos), a pesar de que su coeficiente de solubilidad en medios ácidos es inferior a 0,2% p/v, y la disolución instantánea del Amonafide.2HCl, con un coeficiente de solubilidad en medio ácido muy elevado ($C_s=25,19\%$ p/v, a pH=1,2), indican que la disolución previa de ambas sustancias no va a resultar un factor limitante de su absorción y que se disolverán mayoritariamente a nivel gástrico. Sin embargo, teniendo en cuenta los valores de pKa (2,51 para Mitonafide, y 2,63 y 7,31 para el Amonafide.2HCl) que condicionan un predominio de la forma no ionizada a valores de pH superiores a 2,5-3, se asume que la absorción de estos principios activos se producirá en los primeros segmentos del intestino delgado.

Por todo ello, se puede pensar que su biodisponibilidad por vía oral administrados en solución no se verá modificada cuando se administren en formas farmacéuticas sólidas.

2.- La alta fotosensibilidad del Mitonafide, fácilmente detectable, incluso al estado sólido, debido al oscurecimiento del polvo amarillento cuando permanece bajo la incidencia de la luz solar directa.

3.- La elevada higroscopicidad del Amonafide.2HCl en ambientes de humedad relativa ambiental superiores al 50% (95). Mientras que el

Mitonafide se comporta como un sólido húmedo incluso en ambientes de humedad relativa del 80%.

4.- El pequeño tamaño de partícula del Amonafide.2HCl que provoca la formación de aerosoles durante su manipulación.

5.- Los resultados de los estudios de compatibilidad con excipientes (96) aconsejan evitar la asociación de Mitonafide con Avicel y carboximetilcelulosa sódica al haberse detectado alteración química del principio activo en las mezclas, y la asociación de Amonafide.2HCl con lactosa monohidrato, almidón y carboximetilcelulosa sódica al haberse detectado alteración física en todas estas mezclas y degradación del principio activo en las mezclas con los dos primeros excipientes.

Como consecuencia de los estudios de formulación fueron seleccionados dos tipos de comprimidos con Mitonafide y tres con Amonafide.2HCl.

1.2. EXCIPIENTES.

Aunque la selección de excipientes estuvo precedida de un estudio de compatibilidad con mezclas binarias excipiente-principio activo, al tratar ahora al conjunto formado por varios excipientes y el principio activo, parece oportuno resaltar algunos aspectos de todos ellos¹, como son su higroscopicidad y su contenido en agua, que pueden estar relacionados con la estabilidad de la forma farmacéutica frente a distintas condiciones de almacenamiento. La higroscopicidad se estudia siempre a 25°C y el contenido en agua se determina por la técnica de Karl-Fischer o por la pérdida de peso por ignición.

En los comprimidos de Mitonafide, que se comporta como un sólido húmedo en ambientes de humedad relativa por debajo del 80% y presenta un contenido en agua inferior al 0,1%, se utilizan como excipientes:

- Ludipress® (granulado constituido por un 93,4% de lactosa monohidrato, un 3,2% de PVP K30 y un 3,4% de Kollidon CL). Absorbe un 6% de agua tras 7 días bajo una humedad relativa del 85%, que es el contenido en agua máximo permitido para este excipiente.

- Lactosa monohidrato. Se comporta como un sólido húmedo en ambientes con una humedad relativa inferior al 90% y debe presentar un contenido en agua igual o inferior al 5,5%, del cual el 5% es agua de hidratación que cede totalmente a 120°C y el 0,5% es agua adsorbida que pierde a 80°C.

- Almidón de maíz. Empieza a captar agua cuando la humedad relativa ambiental es igual o superior al 30%. Es el menos higroscópico de los almidones naturales entre el 30 y el 80% de H.R. Tiene hasta un 15% de agua.

- Explotab®. A partir del 70% de humedad relativa capta

¹ Los datos correspondientes a los excipientes han sido extraídos de la información proporcionada por los folletos técnicos de las casas comerciales y del libro Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd ed. 1994 (editado por A.Wade, P.J.Weller; American Pharmaceutical Association (Washington) y Pharmaceutical Press (London)).

agua, puede adsorber hasta un 60% de agua bajo un 100% de H.R. La cantidad de agua que puede contener es elevada y es igual o inferior al 10%.

Los comprimidos con Amonafide.2HCl, sustancia con un contenido en agua inferior al 0,4% y que capta hasta un 13% de agua en ambientes de humedad relativa próximos al 80%, manifestando su comportamiento higroscópico bajo humedades relativas superiores al 50%, tienen como excipientes:

- Avicel[®] PH101. Manifiesta un comportamiento higroscópico en ambientes de humedad relativa igual o superior al 10% (figura 2), captando de un 2 a un 12% de agua como máximo. Presenta un porcentaje de agua igual o inferior al 5%.

- Emcompress[®]. Se comporta como un sólido húmedo a humedades relativas iguales o inferiores al 80%. Tiene del 1,1 al 20% de agua según el método de determinación. No existe un método directo válido y normalmente se determina por pérdida de peso por ignición. Esta pérdida incluye, además de la pérdida de agua libre y agua de hidratación, la eliminación de 1 mol de agua por cada dos moles de CaHPO₄ (fosfato cálcico) al convertirse en pirofosfato. También se debe recordar el comportamiento especial del Emcompress en cuanto a su deshidratación según las condiciones ambientales.

En los comprimidos tanto de Miconafide como de Amonafide.2HCl están como excipientes:

- PVP K30. Manifiesta un comportamiento higroscópico en ambientes de humedad relativa iguales o superiores al 10%, captando de un 5 a un 25% de agua (figura 2). Tiene una cantidad de agua igual o inferior al 5%.

- Estearato magnésico. Capta agua a partir del 70% de humedad relativa, siendo el 7% la cantidad máxima que puede adsorber. Su contenido en agua es igual o inferior al 4%.

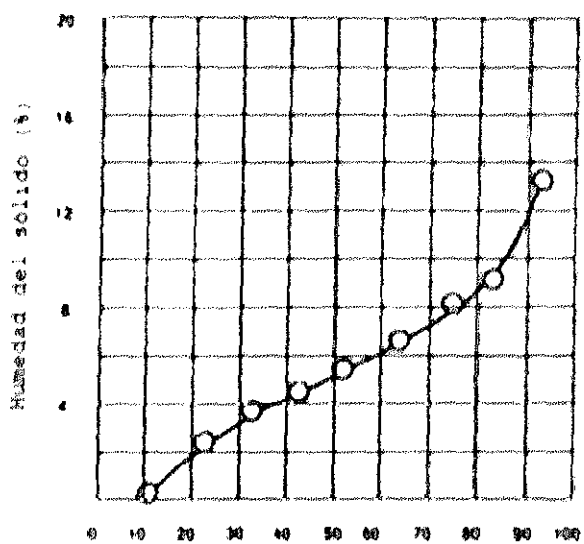


Fig. 2.a.

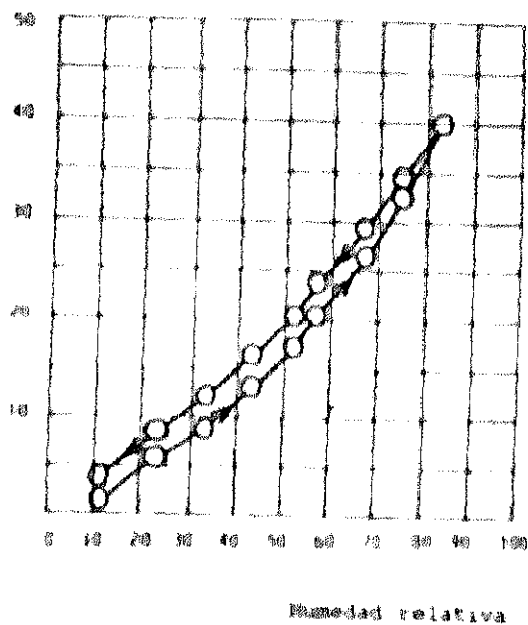


Fig. 2.b.

Figura 2. Curvas de la humedad de equilibrio a 25°C: 2.a. Avicel® PH101.

2.b. FVP K30.

2. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL.

Hasta mediados del siglo actual, los estudios de estabilidad constituían procesos empíricos. Hoy en día, estos estudios están apoyados totalmente en un trabajo experimental que consiste, fundamentalmente, en mantener muestras del producto en estudio en condiciones predefinidas y controladas, y analizarlas periódicamente. Los resultados obtenidos en el trabajo experimental se tratan matemática y estadísticamente para llegar a formular una predicción de la estabilidad con una seguridad o confianza conocida.

Condiciones predefinidas y controladas. En la década de los 50, Garret demostró que era posible efectuar predicciones de estabilidad de nuevas formulaciones farmacéuticas utilizando procedimientos de envejecimiento acelerado. La experiencia mundial adquirida hasta la fecha ha mostrado que los datos obtenidos en este tipo de envejecimiento son muy útiles para comparar formulaciones y ver cuál es más estable frente a estas condiciones drásticas, pero no son aplicables en términos absolutos, porque, en muchos casos, no existe una relación entre la intensidad del agente externo y la intensidad de la alteración, ni de ésta con el tiempo. Por ello, se realizan también ensayos de envejecimiento natural.

Para acelerar el proceso de envejecimiento, se recurre a la temperatura y a la humedad relativa ambiental, que son los factores más frecuentemente utilizados para incrementar la alteración de las propiedades de sólidos.

La humedad relativa ambiental tiene una significación añadida en este trabajo, ya que el $\text{Aconafide} \cdot 2\text{HCl}$ presenta un comportamiento higroscópico por encima del 50% H.R.

Se va a aplicar la Teoría de Arrhenius a los datos obtenidos en el estudio isotérmico de envejecimiento acelerado. Es muy importante la necesidad de emplear al menos 4 puntos (temperaturas) para obtener una fiabilidad razonable a la hora de hacer una extrapolación aplicando este tratamiento de datos. También se debe considerar, a la hora de plantear el estudio isotérmico, que cuanto mayor es la diferencia entre la

temperatura ambiente y las temperaturas estudiadas, es decir, cuanto más alejado esté el punto de extrapolación de los puntos experimentales, mayor es la variación, desviación de los resultados obtenidos y, por tanto, los límites de confianza ($P=0,05$) del valor extrapolado a temperatura ambiente (97).

Muestreo o periodicidad de las valoraciones. Es norma general que cuanto menos estable sea la formulación y/o más drástica sea la condición de almacenamiento, más frecuente sea el muestreo durante el envejecimiento acelerado.

Los ensayos de envejecimiento natural siempre se han denominado de larga duración. Ahora bien, con el desarrollo de los métodos de estadística deductiva y la posibilidad de su fácil aplicación merced a la popularización de los avances tecnológicos de la informática, en un corto periodo de tiempo se pueden efectuar predicciones de estabilidad de medicamentos, a partir de datos obtenidos en envejecimiento natural; estas predicciones, por añadidura, son fiables por cuanto utilizan modelos cinéticos y no termodinámicos como es la ecuación de la Teoría de Arrhenius (el tiempo de vida 90% se calcula a través de una extrapolación en el tiempo, no en la temperatura) (98,99).

Tratamiento matemático-estadístico. Como ya se ha dicho, el plazo de validez de todo medicamento debe ir acompañado de un conocimiento estadístico que lo respalde. Pero además, el planteamiento de todo programa experimental y la interpretación de los resultados requiere la aplicación de algunos métodos matemático-estadísticos.

Por eso, el cálculo matemático podría ser considerado una fase más de la metodología experimental.

El Planteamiento experimental de nuestro estudio de estabilidad va a tener en cuenta todo lo expuesto hasta ahora y la ordenación recomendada por la nota explicativa de la I.C.H. (*International Conference on Harmonization*) (5) para estos estudios.

En primer lugar, parece oportuno destacar unas conclusiones básicas para la ejecución, a nivel de laboratorio, del trabajo, que surgen de la lectura del apartado anterior: "Antecedentes".

1.- La protección del Mitonafide frente a la luz solar directa, dada su alta fotosensibilidad, pudiéndose trabajar, sin embargo, con luz difusa sin tomar precauciones especiales. En el almacenamiento de las materias primas y de las formas farmacéuticas, se debe emplear material de acondicionamiento adecuado para preservarlas de la luz solar.

2.- El riesgo de la formación de aerosoles durante la manipulación del Amonafide.2HCl, debido a su pequeño tamaño de partícula. Este dato ha de tenerse en cuenta especialmente a la hora de elaborar las formas de dosificación (comprimidos), fundamentalmente en las etapas de mezcla y compresión, por la actividad mutagénica potencial que presenta esta sustancia como tal agente antineoplásico.

3.- La manipulación a nivel de laboratorio con Amonafide.2HCl en disoluciones acuosas durante cortos períodos de tiempo (los propios para un método analítico, para preparación de muestras analíticas,...) es posible, aun quedando clara la relación entre el pH del medio y la velocidad de degradación del Amonafide.2HCl, dado el alto valor de t_{90} calculado para 25°C y pH de 1,2 (161,72 días).

4.- El comportamiento higroscópico del Amonafide.2HCl obliga a su conservación y manipulación en ambientes de H.R. controlada inferior al 50%.

5.- La espectrofotometría UV-VIS carece de especificidad, pero dada la sencillez del método analítico y la rapidez con que es posible desarrollarlo, se puede utilizar "a priori" en los ensayos de velocidad de disolución.

Para los estudios de estabilidad química la técnica de elección es la de cromatografía líquida de alta resolución (H.P.L.C.) con patrón externo.

19/ Elaboración de varios tipos de comprimidos con Mitonafide o Amonafide.2HCl, que difieren entre sí en composición y/o técnica de obtención. Son minilotes representativos y su proceso de manufactura está sujeto a todos los controles intermedios.

20/ Validación del método analítico por cromatografía líquida de alta resolución (H.P.L.C.) para la valoración de Mitonafide y Amonafie.2HCl en producto terminado. La validación se realiza para cada uno de los 5 tipos de comprimidos.

La cromatografía líquida de alta resolución es el método analítico recomendado en los estudios de estabilidad porque, entre otras ventajas, puede separar y cuantificar al principio activo de sus productos de degradación, cosa que el método por espectrofotometría no puede, como ya se ha visto. Una desventaja de la técnica es que requiere mucho tiempo.

Aunque el método analítico empleado en este estudio de estabilidad se desarrolló y validó inicialmente sobre principio activo, materia prima, es necesario mostrar que tal método es aplicable en presencia de elementos de formulación inactivos y de sus productos de degradación si los hubiera.

30/ Propiedades que se evalúan. En la forma farmacéutica comprimidos, los parámetros a determinar en cada condición y tiempo de muestreo son, como ya se dijo en el apartado "Estabilidad de formas farmacéuticas sólidas: comprimidos":

- 1.- Físicos: - Aspecto.
- Dimensiones.
- Peso.
- Friabilidad.
- Resistencia a la fractura.
- Tiempo de disgregación.
- Perfiles de disolución.

2.- Químicos: contenido en principio activo.

En nuestro caso no es necesario estudiar la estabilidad microbiológica (12).

En cuanto a la estabilidad terapéutica, ya se ha comentado que es imprescindible estudiarla en la formulación definitiva con estudios "in vivo". A nuestro nivel del desarrollo galénico, según algunos autores, se puede evaluar el impacto del almacenamiento sobre la biodisponibilidad del producto con ensayos "in vitro", aduciendo que, en general, una disminución en la eficacia terapéutica tiene lugar porque el principio activo está menos disponible para la absorción. Lachman y col., Murthy y Ghebre-Sellassie (33) consideran el ensayo de disolución como el ensayo crítico "in vitro" para estudiar el impacto en la biodisponibilidad, afirmando que una modificación en la velocidad de disolución tras el almacenamiento supone, seguramente, una modificación en la eficacia del principio activo. Autores como Pia Delfina, Obach (100,20) son más conservadores. Reconocen que, aunque resulta prácticamente imposible mimetizar en el laboratorio las condiciones fisiológicas, la medida de la velocidad de disolución "in vitro" de los fármacos en sus formulaciones proporciona, con frecuencia, una idea aproximada e incluso muy concreta de lo que sucederá tras la administración oral del preparado, pero mediando el condicionante de que la disolución actúe como factor limitante de la absorción del fármaco. Otros autores, con un criterio más próximo al objetivo de los estudios de estabilidad en esta fase de desarrollo galénico, no hablan de los ensayos "in vitro" como medida de la evaluación de la biodisponibilidad, sino como forma de estimar *comparativamente* la estabilidad en la biodisponibilidad del producto en las distintas formulaciones. En este sentido, se pronuncian Cadórniga (34) y Carstensen (101).

Aunque al ensayo de disgregación se le está dando cada vez más un carácter de ensayo recomendado desde el punto de vista de los Compendios Farmacéuticos, y está siendo sustituido, en un sentido obligatorio, por el ensayo de disolución, se ha incluido porque el ensayo de disgregación

es mucho más fácil de llevar a cabo, y en un programa de estabilidad se podrá determinar la disgregación con más frecuencia que la disolución. Por supuesto, en productos especiales o problemáticos, el ensayo de disolución se realiza tan a menudo como haga falta (31).

En la fase de desarrollo de estudios de estabilidad, los ensayos de disolución suponen un 30% de todos los ensayos (102).

4º/ Condiciones de almacenamiento. Los comprimidos se mantienen en condiciones normales, así como en condiciones forzadas de temperatura y/o humedad.

1.- Envejecimiento acelerado:

* Para el estudio isotérmico o de la influencia del calor sobre la estabilidad de los comprimidos se trabaja con 4 temperaturas: 60, 70, 80 y 90°C, con una fluctuación máxima de $\pm 2^\circ\text{C}$.

* Los procesos de inestabilidad inducidos o favorecidos por la presencia de agua se estudian a una temperatura constante de 45°C y con distintos ambientes de humedad relativa controlada: 45% y 75%, con una fluctuación máxima de $\pm 5\%$.

2.- Envejecimiento natural: condiciones normales ambientales del laboratorio, evitando la incidencia de las radiaciones solares en el caso de los comprimidos con Mitonafide.

5º/ Tiempo de muestreo o periodicidad de los análisis.

La elevada estabilidad demostrada por ambos principios activos (Mitonafide y Amonafide.2HCl) al estado sólido justifica el planteamiento de tiempos de muestreo dilatados.

1.- Cada 6 semanas para los estudios isotérmicos.

2.- Cada 19 semanas para estudiar la influencia de la humedad relativa ambiental.

3.- 2 años, en el estudio de envejecimiento natural.

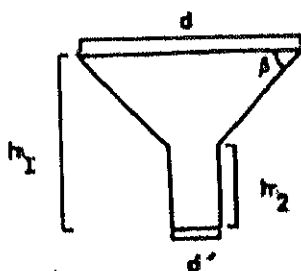
Esta periodicidad es modificable en función de los resultados que se vayan obteniendo a lo largo del estudio.

En cada caso el ensayo se prolonga hasta disponer de los datos necesarios para poder aplicar el tratamiento estadístico adecuado. En principio, se piensa en 1) análisis para el estudio isotérmico, en 2) para el de la influencia de la humedad relativa ambiental y en 3) para el envejecimiento natural.

6º/ Tamaño de lote. Para cada condición y tiempo de muestreo, el número de comprimidos necesario es el mismo que cuando se caracterizan recién preparados, con una salvedad: el número de comprimidos para analizar el contenido en principio activo. Este número viene dado para cada tipo de comprimido por el coeficiente de variación obtenido en el estudio de precisión de la validación del método analítico. Para homogeneizar se considera, "a priori", que este número es igual a 4. De esta forma, cada lote de comprimidos está formado por unas 6000 unidades.

Por último, destacar que cuando en el estudio de estabilidad los ensayos no pueden realizarse inmediatamente después del tiempo de almacenamiento designado en el protocolo, se sigue la sugerencia que Carstensen y Rhodes (103) formulan en uno de sus artículos de congelar las muestras hasta que se puedan analizar. Dicen que es una forma razonable de mantener el protocolo, pero que no es válido para datos de disolución. Más tarde, Carstensen y col, en otro artículo, tratan datos a tiempo real para demostrar, primero, que tal procedimiento (el de congelar) es fiable para comprimidos con ácido nalidixico y presumiblemente para otros comprimidos, y, segundo, que el modelo de disolución puede ser congelado también (104).

- * Punzones planos biselados de 1mm de diámetro.
- * Tamices de acero con una luz de malla de 710, 300, 250, 100 y 75 μ m (C.I.S.A.).
- * Valorador Karl Fisher 658 K.F.Processor, conectado a una bureta dosificadora 665 Dosimat de 10cm³ de capacidad (Metrohm).
- * Estufa de desecación (J.Bonala).
- * Microjeringa de 10 μ l de capacidad (Hamilton).
- * Probeta graduada de 100cm³ de capacidad.
- * Embudo de acero inoxidable con las siguientes dimensiones:



$$\begin{aligned}
 h_1 &= 6 \text{ cm} \\
 h_2 &= 1,2 \text{ cm} \\
 d &= 7 \text{ cm} \\
 d' &= 1,3 \text{ cm} \\
 \beta &= 31^\circ
 \end{aligned}$$

- * Cromatógrafo 1082A con registrador 79850A y provisto de inyector automático (Hewlett-Packard).
- * Columna Spherisorb ODS-2 25x0,46cm (d.i.), 10 μ m (Tecnokroma).
- * Filtros con carcasa de polipropileno con un diámetro de 25mm, y membrana de PVDF con un diámetro de poro igual a 0,45 μ m (Lida).
- * Filtros de 47mm de diámetro y 0,45 μ m de poro, con una membrana de nylon resistente al acetonitrilo (Millipore).
- * Pie de rey.
- * Balanza de precisión de 0,01 a 160g (Sartorius).
- * Disgregador PTZ1 Pharma Test (Massó Analítica).
- * Durómetro (Erweka).
- * Friabilómetro (Erweka).
- * Espectrofotómetro (DU Beckman).
- * Aparato para el ensayo de velocidad de disolución (SOTAX AT7).
- * 2 Desecadoras.

- * Termohigrómetro serie profesional Testoterm 6010 (Kainos).
- * Armario termostatzado PT 100 con una fluctuación térmica máxima del $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (Radiber S.A.).
- * Placas Petri.
- * Termómetro de máxima y mínima.
- * Armario termostatzado Thermocenter (Salvis).
- * Ordenador personal IBM 425 SX.

3. ELABORACION DE LOS COMPRIMIDOS.

3.1. METODO

En la etapa de formulación se seleccionaron cinco tipos de comprimidos, dos con Mitonafide y tres con Amonafide.2HCl, denominados M-I, M-II, A-I, A-II y A-III.

Para realizar los estudios de estabilidad, se elaboran estos comprimidos, siguiendo fielmente las pautas dadas en la etapa de formulación (92,93,105).

3.1.1. COMPOSICION DE LOS COMPRIMIDOS.

La composición de los comprimidos con Mitonafide y con Amonafide.2HCl se muestra en las tablas I y II (composición por comprimido) y en la figura 3 (composición porcentual).

Tabla I: Composición de los comprimidos con Mitonafide, expresada en mg.

COMPONENTES	COMPRIMIDOS TIPO	
	M-I	M-II
Mitonafide	100,00	100,00
Lactosa monohidrato		36,66
Almidón de maíz		35,98
Ludipress	66,66	
Explotab: intragranular	0,48	
extragranular	1,17	
PVP K30	2,39	7,57
Estearato magnésico	1,36	1,44

Tabla II: Composición de los comprimidos con Amonafide, expresada en mg.

COMPONENTES	COMPRIMIDOS TIPO		
	A-I	A-II	A-III
Amonafide.2HCl	251,50	251,50	251,50
Avicel PH101	125,74	20,78	17,97
Emcompress		125,74	89,80
PVP K30	21,98	17,60	11,32
Estearato Mg	3,22	3,35	2,99

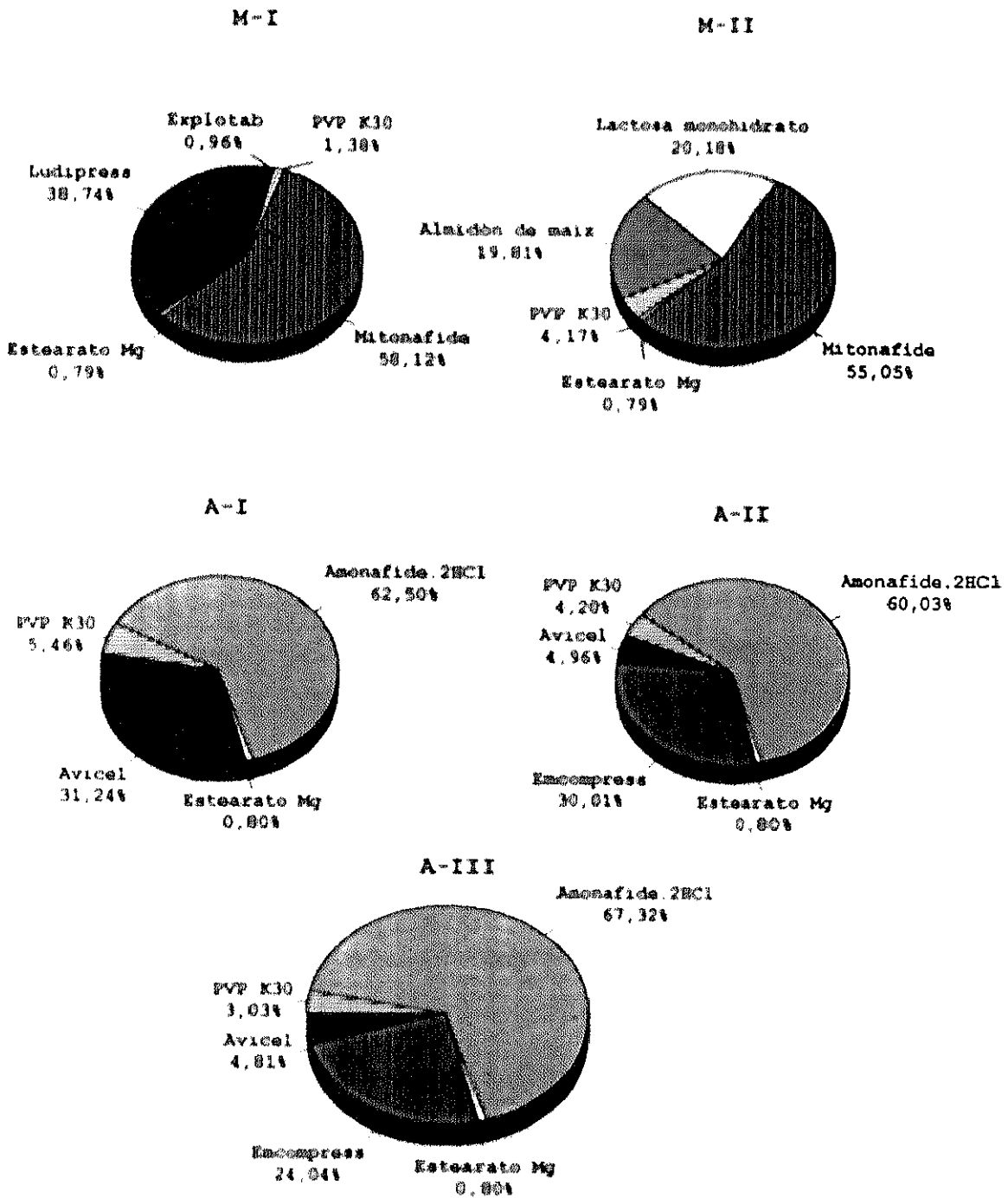


Figura 1. Composición porcentual de los comprimidos.

3.1.2. TECNICA DE ELABORACION.

Los comprimidos M-II, A-I y A-II se obtienen por compresión previa granulación por vía húmeda convencional. Se mezcla el principio activo con el diluyente y una parte del disgregante. Se prepara la disolución aglutinante y se adiciona sobre la mezcla anterior. Se granula, se seca el granulado y se tamiza. Se incorpora lo que queda del disgregante y el lubricante, y se comprime.

Los comprimidos M-I y A-III se obtienen por compresión de una mezcla de excipientes de compresión directa y un aglomerado que contiene al principio activo. Se prepara la solución aglutinante y se nebuliza sobre el principio activo o sobre la mezcla de principio activo y disgregante (intragranular). Se granula, se seca, se tamiza y se mezcla con el resto de los excipientes, procediéndose posteriormente a la compresión.

Para caracterizar los aglomerados o los granulados se utilizan los métodos estandarizados en los estudios de preformulación. Se determina la humedad por el método de Karl Fisher, la densidad aparente por el método descrito por Van Ooteghem y la fluidez a través del ángulo de reposo por el método del embudo fijo con sistema de cierre. El grado de compresibilidad del granulado se calcula a partir del valor de densidad aparente y se expresa en porcentaje.

Cabe destacar que los comprimidos A-II son un puente entre los A-I y los A-III, ya que presentan la misma técnica de elaboración que los A-I y la misma composición cualitativa que los A-III.

COMPRIMIDOS CON MITONAFIDE**COMPRIMIDOS M-I**

El principio activo es Mitonafide. Como excipiente de compresión directa se utiliza Ludipress. Para evitar problemas en la cinética de disolución de estos comprimidos, se incorpora a la formulación un disgregante de acción rápida: Explotab, de forma intra y extragranular. La solución aglutinante contiene un 5% de PVP K30 y un 1% de Explotab en agua. Como lubricante-deslizante se emplea estearato magnésico.

El Mitonafide se aglomera nebulizando la solución aglutinante y haciendo pasar la masa húmeda por un tamiz de 250 μ m de luz de malla, para facilitar la mezcla, una vez seco, con el Ludipress. El aglomerado húmedo se deseca en una estufa a 40°C y corriente de aire hasta que contenga una humedad media adecuada (5% máximo). Se separan los finos (diámetro menor a 100 μ m) y se aglomeran otra vez, para aumentar el rendimiento de la operación, se vuelve a desecar bajo las mismas condiciones y se mezcla con el aglomerado anterior. Se calcula el rendimiento y se caracteriza el aglomerado seco. Si es apto, se mezcla con el Ludipress y con el resto de Explotab. Se tamiza el estearato magnésico por una luz de malla de 75 μ m y se añade directamente sobre la mezcla aglomerado-excipientes. El flujo se determina antes y después de incorporar el lubricante. Si los resultados son buenos, se comprime.

COMPRIMIDOS M-II

Para acompañar al principio activo, Mitonafide, se seleccionan la lactosa monohidrato como diluyente y el almidón de maíz como disgregante intra y extragranular. Como solución aglutinante se emplea una disolución al 1% de PVP K30 en agua y como lubricante-deslizante estearato magnésico.

Se mezclan el Mitonafide, la lactosa monohidrato y un 80,05% del almidón de maíz. Cuando la mezcla es homogénea, se le añade la solución aglutinante, lentamente y amasando después de cada adición, hasta obtener una masa húmeda de consistencia pastosa. Se pasa a través de un tamiz de 710 μ m de luz de malla, obteniéndose un granulado húmedo que se introduce en la estufa de desecación a una temperatura de 40°C y corriente de aire, hasta alcanzar una humedad del 5% como máximo. El granulado seco se tamiza otra vez por una malla de 710 μ m de luz, se le incorpora la segunda fracción del disgregante y se mezcla. Se realizan los ensayos de caracterización del granulado y si es considerado apto para la compresión, se le separa la fracción de tamaño de partícula inferior a 250 μ m con el tamiz correspondiente para mezclarla con el estearato magnésico, previamente tamizado por una luz de malla de 100 μ m. Esta mezcla se incorpora al resto del granulado y se determina la fluidez. Si ésta es adecuada se pasa a la etapa de compresión.

COMPRIMIDOS CON AMONAFIDE.2HCl**COMPRIMIDOS A-I**

El principio activo es Amonafide.2HCl. Se emplea como diluyente-disgregante Avicel PH101, como solución aglutinante una disolución hidroalcohólica 25:75 al 7,5% de PVP K30 y como lubricante-deslizante el estearato magnésico.

El Amonafide.2HCl y el Avicel PH101 constituyen la masa a granular. A la mezcla de estos dos componentes se le va añadiendo lentamente la solución aglutinante, amasando tras cada adición. Se obtiene una masa húmeda de fácil manejo que se granula con un tamiz de 710 μ m de luz de malla. Este granulado se deseca en una estufa a una temperatura de 40°C y corriente de aire hasta un contenido en agua del 4% máximo. Se tamiza el granulado seco resultante con el tamiz de 710 μ m y se realizan los ensayos de caracterización propios. Considerado el granulado apto para la compresión, se añade el lubricante, previamente tamizado a través de una luz de 75 μ m, a una fracción de granulado de tamaño menor a 250 μ m. Esta mezcla se incorpora al resto del granulado, se determina la fluidez y si es apta, se obtienen los comprimidos.

COMPRIMIDOS A-II

El principio activo es Amonafide.2HCl. Se emplea como diluyente Emcompress, como disgregante de adición externa Avicel PH101 (debido a la alta solubilidad del principio activo), como solución aglutinante una disolución hidroalcohólica 25:75 de PVP K30 al 7,5% y como lubricante-deslizante estearato magnésico.

El principio activo y el Emcompress se mezclan, con cierta dificultad, debido a su diferente tamaño de partícula, 41,22 μ m y 200 μ m, respectivamente. A esta mezcla se le va añadiendo la solución

aglutinante poco a poco, amasando tras cada adición. La masa húmeda obtenida se granula con un tamiz de $710\mu\text{m}$ de luz de malla. Este granulado se deseca en una estufa a una temperatura de 40°C y corriente de aire hasta un contenido máximo en agua del 5%. El granulado seco resultante se tamiza con el tamiz de $710\mu\text{m}$ y se mezcla con el Avicel PH101. Tras realizar los ensayos correspondientes y ver que el granulado es apto para la compresión, se toma la fracción de granulado con un tamaño inferior a $250\mu\text{m}$ y se le añade el lubricante, previamente tamizado por una luz de malla de $75\mu\text{m}$. Esta mezcla se incorpora al resto del granulado, se determina la fluidez y se comprime.

COMPRIMIDOS A-III

Con la finalidad de obtener un principio activo, materia prima, que conlleve menos riesgos en su manipulación, se elabora un aglomerado de mayor tamaño de partícula, por humectación del Amonafide.2HCl con una solución de PVP K30 al 5% en alcohol.

Se emplea como diluyente Emcompress, como disgregante Avicel PH101 y como lubricante-deslizante estearato magnésico.

Se nebuliza la solución alcohólica de PVP K30 sobre Amonafide.2HCl hasta conseguir una masa húmeda de fácil manejo, que se pasa a través de un tamiz de $300\mu\text{m}$ de luz de malla. El aglomerado húmedo formado se deseca en una estufa a 40°C y corriente de aire hasta un contenido máximo en agua del 5%. Se obtiene un aglomerado seco del que se separa por tamización la fracción de diámetro superior a $100\mu\text{m}$, se pesa para determinar el rendimiento y se procede a caracterizar convenientemente. Si es apto se le añade Emcompress, con un tamaño de partícula similar al diámetro medio de las partículas de Amonafide.2HCl aglomerado lo que favorece su mezcla, después Avicel PH101 y, por último, estearato magnésico tamizado a través de una luz de $75\mu\text{m}$, que se añade sobre la mezcla de principio activo-excipientes. El flujo se determina antes y después de añadir el lubricante.

3.2. RESULTADOS

Los valores medios (\bar{x}) y los coeficientes de variación (C.V.) obtenidos en la determinación del contenido en agua, de la fluidez (ángulo de reposo) y de la densidad aparente del granulado seco o del aglomerado seco, según el caso, de los comprimidos con Mitonafide o con Amonafide.2HCl están recogidos en las tablas III y IV, respectivamente.

El rendimiento en la preparación del aglomerado con Mitonafide es del 83,53% y el de la preparación del aglomerado de Amonafide.2HCl del 82,4%.

La humedad residual media es del 1,27%, 3,40% y 4,57% para los granulados secos de los comprimidos M-II, A-I y A-II, y del 0,36% y 4,04% para los aglomerados secos de los comprimidos M-I y A-III.

El valor medio del ángulo de reposo del granulado es menor tras la adición del lubricante, en todos los casos. Así pasa de $37,58 \pm 0,21^\circ$ ($P=0,01$) a $35,20 \pm 0,18^\circ$ ($P=0,01$) en los comprimidos M-II, de $37,55 \pm 0,23^\circ$ ($P=0,01$) a $35,03 \pm 0,38^\circ$ ($P=0,01$) en los comprimidos A-I y de $34,44 \pm 0,13^\circ$ ($P=0,01$) a $32,50 \pm 0,14^\circ$ ($P=0,01$) en los comprimidos A-II.

En los comprimidos M-I, el valor medio del ángulo de reposo del aglomerado ($35,30 \pm 0,26^\circ$) es mayor que el valor medio del ángulo de reposo de la mezcla sin estearato magnésico ($34,05 \pm 0,14^\circ$). Sin embargo en los A-III pasa lo contrario, el valor medio del ángulo de reposo de la mezcla sin estearato magnésico ($35,04 \pm 0,17^\circ$) es mayor respecto al valor medio del ángulo de reposo del aglomerado ($33,68 \pm 0,06^\circ$). Ahora bien, tras la adición del estearato magnésico, el valor medio del ángulo de reposo pasa a ser menor en ambos casos ($30,665 \pm 0,25^\circ$ para M-I y $32,19 \pm 0,13^\circ$ para A-III).

Las densidades aparentes de las mezclas pulverulentas de los comprimidos M-I y A-III tienen un valor medio de $0,5791 \pm 0,0073 \text{ g/cm}^3$ y de $0,4904 \pm 0,0169 \text{ g/cm}^3$, respectivamente. Los granulados de los comprimidos M-II, A-I y A-II tienen un valor medio de $0,5165 \pm 0,0084 \text{ g/cm}^3$, $0,3557 \pm 0,0094 \text{ g/cm}^3$ y $0,4777 \pm 0,0110 \text{ g/cm}^3$, respectivamente.

La compresibilidad de los aglomerados de Mitonafide y Asonafide.2HCl es del 12,4% y 5,35%, respectivamente. Los granulados para la obtención de los comprimidos M-II, A-I y A-II presentan valores del 6,54%, 10,74% y 6,38%.

Estos resultados no hacen suponer problemas durante la compresión.

Tabla III: Tipificación del material a comprimir con Mitonafide.

		n	\bar{X}	C.V.
M-I				
Contenido en agua (%)		3	0,3619	2,02%
Fluidez: α (°)	Aglomerado	10	15,30	0,74%
	Sin estearato	10	14,05	0,47%
	Con estearato	10	10,66	0,95%
Densidad aparente (g/cm ³)		5	0,5791	0,75%
M-II				
Contenido en agua (%)		3	1,2682	4,04%
Fluidez: α (°)	Sin estearato	10	17,58	0,51%
	Con estearato	10	15,20	0,60%
Densidad aparente (g/cm ³)		5	0,5165	0,97%

Tabla IV: Tipificación del material a comprimir con Amonafide.2HCl.

		n	\bar{x}	C.V.
A-I				
Contenido en agua (%)		3	3,4014	2,00%
Fluidez: α (°)	Sin estearato	10	17,55	0,69%
	Con estearato	10	35,03	1,20%
Densidad aparente (g/cm ³)		5	0,3557	1,58%
A-II				
Contenido en agua (%)		3	4,5673	1,04%
Fluidez: α (°)	Sin estearato	10	34,44	0,41%
	Con estearato	10	32,50	0,48%
Densidad aparente (g/cm ³)		5	0,4777	1,37%
A-III				
Contenido en agua (%)		3	4,0452	0,27%
Fluidez: α (°)	Aglomerado	10	13,68	0,50%
	Sin estearato	10	15,04	0,54%
	Con estearato	10	12,19	0,47%
Densidad aparente (g/cm ³)		5	0,4904	2,07%

4. VALIDACION DEL METODO ANALITICO POR H.P.L.C.

Al plantearse el desarrollo galénico de cualquier sustancia nueva es indispensable disponer de un método analítico definido, puesto a punto y validado.

El desarrollo de un método analítico supone (106):

-Definición de las características y requerimientos que debe satisfacer el método: precisión exigible, sensibilidad deseable, grado de selectividad, tiempo, coste, instrumentación, etc.

-Puesta a punto. Incluye la definición de los parámetros de idoneidad que garanticen el buen funcionamiento del sistema en el momento del análisis.

-Validación. Permitirá conocer la fiabilidad del método para su aplicación rutinaria y, en combinación con las etapas anteriores, sus características de funcionamiento con consecuencias positivas para su rendimiento.

El concepto de validación aparece por primera vez en la revisión de las normas GMP, propuesta por la F.D.A. en 1976, con el fin de adecuarlas a los requisitos que proporcionan una garantía de calidad (107,108).

Las Normas de Correcta Fabricación de medicamentos y de Buenas Prácticas de Laboratorio de las Comunidades Europeas recomiendan la validación (109).

Respecto a las Farmacopeas, sus métodos están ya validados y por ello los métodos propios de principios activos no hace falta validarlos, pero los de producto terminado sí, sobre todo exactitud, precisión y especificidad. Aún así, no es suficiente utilizar un método documentado en la bibliografía, es necesario demostrar que se es capaz de aplicarlo correctamente, incluyendo datos relativos a la especificidad, linealidad, sensibilidad y precisión. En la USP 23 aparece, en la sección de Información General, un apartado de validación de aplicación a métodos nuevos ó revisados (110). En otras farmacopeas se prevé la inclusión de la validación en próximas revisiones y ediciones.

En España, la Orden de 19 de abril de 1985, del Ministerio de Sanidad y Consumo, sobre normas de correcta fabricación y control de calidad de los medicamentos, proporciona una interpretación al término de validación: "se llama validación a la obtención de pruebas convenientemente documentadas, demostrativas de que un método de fabricación ó control es lo suficientemente fiable como para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos" (111).

Las características de funcionamiento de un método analítico se engloban en los siguientes grupos fundamentales (112):

-Fiabilidad. Son aquellas características que demuestran la capacidad de un método analítico para mantener a lo largo del tiempo los cinco criterios fundamentales de validación, no necesariamente aplicables en todos los casos, y de los que derivan en la práctica todos los parámetros de validación. El primer criterio está relacionado con los parámetros de linealidad; el segundo con los de precisión, repetibilidad, reproducibilidad y robustez o solidez; el tercero con la exactitud; el cuarto con la sensibilidad, el límite de detección y el límite de cuantificación; y el quinto con la selectividad y la especificidad.

-Practicabilidad. Son las características que deciden si el procedimiento analítico es fácil ó difícilmente realizable en la práctica. Entre los parámetros de practicabilidad se pueden citar: tiempo de ejecución, coste, cualificación del personal, tipo de instrumental, fiabilidad mecánica, seguridad de laboratorio,...

-Idoneidad. Son el conjunto de parámetros que garantizan que el sistema responde, en el momento del análisis, a los requisitos fijados en la validación del método. Estos parámetros no son de validación y deben considerarse dentro de las Buenas Prácticas de Laboratorio Analítico.

Los instrumentos se cualifican, los métodos se validan y la idoneidad verifica el buen funcionamiento del sistema (instrumento y método) en el momento de su uso.

Las características de funcionamiento de los métodos analíticos deben definirse y usarse experimentalmente de forma que cualquier analista pueda interpretarlos correctamente. Sin embargo, existe una terminología tan abundante y tantas opiniones diferentes que no resulta fácil para el analista decidir qué atributos debe utilizar. No existe un único modelo o diseño de plan de validación. La filosofía en materia de validación de métodos analíticos no permite adoptar un criterio único sobre muchos de los aspectos implicados (113), en atención a que: 1º no existe un acuerdo universal sobre la definición (y consecuentemente sobre el cálculo) de algunos parámetros, 2º un mismo parámetro puede estimarse por distintos métodos (114), y 3º determinados métodos analíticos requieren esquemas de validación particulares. A su vez, los parámetros a considerar en la validación varían según las exigencias legales de distintos organismos (115), según el método analítico seleccionado y según el tipo de ensayo.

Así, en primer lugar se ha diseñado un protocolo de validación de métodos analíticos en producto terminado (116) y luego se ha desarrollado y validado un método analítico por cromatografía líquida de alta resolución (H.P.L.C.) para la determinación cualitativa y cuantitativa de Amonafide.2HCl y Mitonafide en comprimidos (117).

4.1. METODO

Se prepara, para cada tipo de comprimido, el número de unidades necesarias, aproximadamente 50, de forma que se asume una dosificación exacta.

4.1.1. CONDICIONES EXPERIMENTALES.

En la tabla V se indican las condiciones experimentales para analizar las sustancias por HPLC.

Tabla V: Condiciones experimentales.

	MITONAFIDE	AMONAFIDE.2HCl
Flujo (cm ³ /min)	1	0,6
Conc. teórica de la muestra (µg/cm ³)	100	60
Volumen de inyección (µl)	35	27
Longitud de onda (nm)	254	
Temperatura de la columna	ambiente	
Eluyentes	solución reguladora acetato pH=4,6 y acetonitrilo para HPLC (30:70)	

Se emplea el método del patrón externo como medio de corregir y normalizar las respuestas obtenidas en el análisis cromatográfico. Como patrón externo se utiliza cafeína anhidra en disolución acuosa al 0,02%.

Cada solución final se inyecta dos veces.

4.1.2. PREPARACION DE MUESTRAS.

4.1.2.1. De materia prima: se pesa exactamente una cantidad de principio activo igual a la dosis prevista (251,5 mg de Amonafide.2ClH

ó 200 mg de Amonafide base y 100 mg de Mitonafide; y se disuelve en agua destilada en el caso del Amonafide y en solución reguladora acetato pH=4,6 en el caso del Mitonafide, para obtener una solución madre con 1 mg de principio activo por cm^3 . Por dilución en agua destilada, se obtienen, a partir de cada solución madre, las concentraciones necesarias.

4.1.2.2. De producto terminado: se pulveriza un comprimido y se realiza una extracción del principio activo empleando agua para Amonafide.2ClH y solución reguladora acetato pH=4,6 para Mitonafide, en cantidad adecuada para obtener una solución madre con una concentración de 1 mg/ cm^3 de principio activo. Se filtra a través de una membrana de PVDF de 0,45 μm , y una alícuota del filtrado se diluye, convenientemente, con agua para conseguir las concentraciones deseadas en cada caso.

4.1.3. PROTOCOLO DE VALIDACION. Se consideran los siguientes parámetros:

4.1.3.1. Linealidad es la capacidad del método analítico de obtener resultados lineal ó directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra dentro de un intervalo definido, y limitado por el intervalo lineal dinámico del sistema instrumental o intervalo de sensibilidad del sistema instrumental de medida.

El estudio de linealidad se efectúa con principio activo, materia prima, pero proyectado hacia un producto terminado. Por eso, se realiza por triplicado (tres soluciones patrón) con cinco concentraciones de principio activo comprendidas entre el 50 y 150% de la teórica.

Mediante el cálculo del estadístico χ^2 (test de Barlett) se determina si las varianzas de las respuestas obtenidas para cada concentración de analito son homogéneas. Se determinan los parámetros de la recta de regresión por mínimos cuadrados ordinarios si, a través del test de Barlett, se ha observado un error homocedástico, y por

mínimos cuadrados ponderados si el error es heterocedástico. Posteriormente se verifica el modelo lineal propuesto en la calibración mediante un ANOVA de la regresión.

4.1.3.2. **Sensibilidad**, se define como la capacidad del método analítico de registrar ligeras variaciones de la concentración de analito en la muestra.

A partir de los resultados del estudio de la linealidad, se calculan: * La sensibilidad de calibrado o pendiente de la recta de calibrado. Se expresa en unidades de respuesta/unidades de concentración o cantidad de principio activo.

* La sensibilidad analítica, relaciona la aleatoriedad de la respuesta con la debida a diferencias en la concentración. Se obtiene dividiendo la pendiente de la recta de calibración (sensibilidad de calibrado) por la desviación estándar de las respuestas en el punto o concentración considerado. Su unidad de medida es el inverso de la concentración o cantidad de principio activo.

Si se establece un error homocedástico, se puede calcular la sensibilidad analítica media, considerando una desviación estándar media para todas las concentraciones.

* La capacidad discriminante, se define como la menor diferencia de concentración o cantidad de analito que puede ponerse de manifiesto con una probabilidad dada. Se calcula como el inverso de la sensibilidad analítica multiplicada por el valor del estadístico t-Student a un umbral de probabilidad de 0,05 y los grados de libertad correspondientes a la muestra introducida.

Si se obtienen varianzas homogéneas se da el valor del límite superior del valor medio de la capacidad discriminante.

4.1.3.3. **Precisión**, indica el grado de reproducibilidad del método analítico bajo condiciones normales de trabajo. Refleja el error aleatorio. Mide la dispersión de los valores analíticos referida al

promedio de los mismos. Esta dispersión es debida a varias fuentes de variación, por ejemplo, instrumental, personal,...

El estudio de la precisión del método se realiza con producto terminado.

Matemáticamente, se expresa a través del coeficiente de variación.

Se designa con distintos nombres la precisión atribuida a las diferentes fuentes de variación:

* Repetibilidad cuando el método sea efectuado en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos aparatos y reactivos, y en el curso de la misma serie de análisis efectuados.

Su estudio se lleva a cabo con tres concentraciones: próxima al límite superior del intervalo de linealidad, media y próxima al límite inferior, y se realizan seis réplicas por concentración en un mismo día.

Se calcula, para cada una, la concentración media y su desviación estándar.

Se puede fijar el número de réplicas necesario para un determinado nivel de aceptación (118):

$$C.V. (\%) = |x-100| \sqrt{n} / Z_{0,01} \quad n = [CV \cdot Z_{0,01} / |x-100|]^2$$

donde: n es el número de repeticiones,

$Z_{0,01}=2,58$. Es el valor del estadístico t-Student para una probabilidad mayor a 0,99 y ∞ grados de libertad,

C.V. (%) = coeficiente de variación experimental,

x es el límite superior ó inferior del nivel de aceptación en % (por ejemplo 95-105%, 90-110%, 85-115%, etc.). Normalmente, x es igual a 105 ó 95 para producto terminado.

Así, un método analítico con un coeficiente de variación muy elevado será preciso, si al utilizarse se incrementa adecuadamente el número de réplicas.

* Reproducibilidad cuando se aplica el método sobre la misma muestra, pero en condiciones distintas (distinto analista, día,

aparato...)). Se realizan dos réplicas con una misma concentración, correspondiente a la teórica ó 100%, cuatro días distintos.

Se calcula la concentración media y su desviación estándar.

Si el coeficiente de variación de la reproducibilidad es mayor que el de la repetibilidad para una misma concentración se debe comprobar si la diferencia entre ellos es significativa o no a través de un test F-Snedecor, en caso afirmativo el factor o la fuente de variación considerada influye en la precisión del método.

* Precisión interlaboratorio, robustez o solidez, cuando además los laboratorios son distintos.

En cuanto a la Precisión del sistema instrumental, también denominada precisión intraensayo, se calcula el coeficiente de variación de 10 respuestas de una misma muestra final, aceptándose, normalmente, coeficientes de variación inferiores al 1-2%.

4.1.3.4. Exactitud, se define como la capacidad del método analítico de dar resultados lo más próximos posible al valor considerado verdadero. Refleja el error sistemático, que puede ser constante o proporcional a la cantidad de analito.

La exactitud se estudia en la forma farmacéutica.

Se analizan tres concentraciones conocidas: una próxima al límite superior del intervalo de linealidad, otra media y otra próxima al límite inferior; seis veces cada una en un mismo día (así se pueden usar los resultados experimentales obtenidos en el estudio de repetibilidad).

Se calcula la recuperación media o porcentaje medio de recuperación de la cantidad de analito presente en la muestra y el coeficiente de variación para cada concentración.

La influencia del factor concentración en la exactitud se estudia realizando un análisis de la varianza de cada concentración:

* Si no se puede afirmar que el factor concentración influya en los resultados, se calcula la recuperación media de todos ellos y su

coeficiente de variación.

* Si el factor concentración influye en los resultados, se determina qué concentración difiere del resto mediante un test de DMS (diferencia mínima significativa).

Matemáticamente, se considera que el método es exacto si en los límites de confianza del valor medio del porcentaje de recuperación está incluido el 100%, o si a través de un test t-Student se demuestra que este valor medio de recuperación no difiere del 100%.

Si el método es inexacto para las tres concentraciones se efectúa un test de proporcionalidad o de error proporcional a la cantidad de analito en la muestra, comparando, mediante una prueba t-Student, el término independiente de la recta de regresión, obtenida utilizando los resultados de las tres concentraciones, con el valor teórico cero; también se puede hacer observando si el valor cero queda incluido en los límites de confianza de la ordenada en el origen.

Si se demuestra que existe un error proporcional a la cantidad de analito en la muestra, el método analítico puede utilizarse, siempre y cuando se aplique la recta de regresión calculada anteriormente con producto terminado y con esas tres concentraciones.

4.1.3.5. Selectividad es la capacidad del método analítico de medir exacta y específicamente al analito, sin interferencias de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados o excipientes que puedan estar presentes en la muestra.

Se determina comparando resultados y gráficas de análisis de principio activo solo (materia prima), de comprimidos activos e inertes, degradados y no degradados.

4.2. RESULTADOS

CUALIFICACION.

En la tabla VI se muestran los resultados obtenidos en la cualificación del cromatógrafo.

LINEALIDAD.

En la tabla VII se recoge la relación de áreas (área problema/área patrón externo) obtenidas por cromatografía líquida (siendo $60\mu\text{g}/\text{cm}^3$ la concentración teórica para el Amonafide y $100\mu\text{g}/\text{cm}^3$ para el Mitonafide). Los valores medios de las áreas del patrón externo son de 428400 y 403600 en las condiciones analíticas del Mitonafide y Amonafide.2HCl, respectivamente.

No se ha podido detectar que haya influencia de la concentración de analito en la varianza de la respuesta, a través del Test de Barlett, ya que el estadístico χ^2 calculado (3,708 para Amonafide.2ClH y 4,497 para Mitonafide) es menor que el tabulado para una probabilidad de 0,05. Así, la curva de calibrado y sus parámetros estadísticos se calculan por mínimos cuadrados ordinarios.

El grado de significación del valor obtenido para el coeficiente de correlación "r" es mayor de 0,999. Por lo tanto, existe una correlación directa o positiva ($r > 0,999$) entre las variables "x" (cantidad de analito) e "y" (relación de áreas). Además, el valor del coeficiente de determinación "r²" nos indica que el 99,92% en el caso del Amonafide.2HCl y el 99,95% en el caso del Mitonafide, de la variación de "y" puede explicarse por la variación de "x".

Los resultados obtenidos en el cálculo del intervalo lineal, de sus parámetros y del ANOVA de la regresión para Amonafide.2ClH y Mitonafide se presentan en la tabla VIII.

Por el análisis de la varianza de la regresión, primero se rechaza la hipótesis nula de la pendiente, por lo tanto, la recta de regresión difiere significativamente de la horizontal, y segundo, se

refleja una relación lineal entre la respuesta y la concentración de analito.

Para los dos casos, el valor de la ordenada en el origen no difiere significativamente de cero; el método cumple la condición de proporcionalidad.

SENSIBILIDAD DEL METODO.

Los datos resultantes de su cálculo se muestran en la tabla IX.

Como se ha observado un error homocedástico (a través del test de Barlett) se da la sensibilidad analítica media y el valor del límite superior del valor medio de la capacidad discriminante.

PRECISION.

En la tabla X se muestra la relación de las áreas (y) obtenidas por cromatografía líquida para cada concentración (x) en el estudio de repetibilidad y en la tabla XI la relación de áreas del estudio de reproducibilidad.

Los resultados analíticos del estudio de la precisión del sistema instrumental o precisión intraensayo están recogidos en la tabla XII.

Los resultados del tratamiento de datos se indican en la tabla XIII. Según los coeficientes de variación calculados en el estudio de repetibilidad, una determinación para los comprimidos M-I, M-II y A-III, y dos para los comprimidos A-I y A-II son suficientes para cuantificar con precisión el contenido en principio activo de los comprimidos, respecto a la concentración teórica (60 y 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ para Amonafide y Mitonafide, respectivamente).

Se han comparado los coeficientes de variación de repetibilidad y reproducibilidad obtenidos para los comprimidos M-I, y estadísticamente no se ha demostrado diferencia significativa entre ellos; por lo tanto, no influye en la precisión que los análisis se

realicen en días distintos para todos los casos.

El coeficiente de variación calculado en el estudio de la precisión del sistema instrumental ó precisión intraensayo (0,67% para Amonafide.2ClH y 0,59% para Mitonafide) es menor que 1-2%.

EXACTITUD.

Se utilizan los datos experimentales obtenidos en el estudio de repetibilidad del método (tabla X).

En la tabla XIV se incluyen los resultados del estudio de exactitud del método y en la XV los parámetros estadísticos.

No se ha detectado estadísticamente que el factor concentración de analito en la muestra influya en la exactitud de los resultados obtenidos con este método analítico.

El método es exacto cuando se analizan comprimidos M-I, M-II y A-I, pero inexacto para los comprimidos A-II y A-III, probablemente debido a una incompleta extracción del principio activo. Así, se aumenta el volumen de líquido extractor obteniendo soluciones madre con una concentración de 0,4 mg/cm³ de principio activo. Se repite el ensayo de exactitud, demostrándose que el método sí es exacto, mejorando la extracción, como queda reflejado en la tabla XVI.

SELECTIVIDAD.

En el estudio de selectividad se obtienen cromatogramas cualitativamente idénticos para los principios activos solos y en los diferentes tipos de comprimidos, antes y después del envejecimiento. En las figuras 4 y 5 se reproducen los cromatogramas más representativos.

En el análisis de los comprimidos placebo (sin principio activo) se obtienen unos cromatogramas planos, antes y después del envejecimiento.

Tabla VI: Cualificación del cromatógrafo.

	MITONAFIDE	AMONAFIDE. 2HCl
Tiempo muerto (min)	3,3	5,5
Factor de Capacidad (k')	0,6	0,4
Nº de platos teóricos	484	860
Altura de los platos (cm)	0,052	0,029
Tiempo de retención (min)	5,5	7,7

Tabla VII: Linealidad. Resultados del análisis cromatográfico.

MITONAFIDE	sol. madre 1	sol. madre 2	sol. madre 3
150 µg/cm ³	1,7612	1,7500	1,7754
120 µg/cm ³	1,3999	1,4001	1,4313
100 µg/cm ³	1,1732	1,1678	1,1897
80 µg/cm ³	0,9410	0,9409	0,9495
60 µg/cm ³	0,7021	0,6993	0,7090
40 µg/cm ³	0,4683	0,4604	0,4740
AMONAFIDE	sol. madre 1	sol. madre 2	sol. madre 3
100 µg/cm ³	2,0914	2,0825	2,0369
80 µg/cm ³	1,6731	1,6641	1,6309
60 µg/cm ³	1,2598	1,2546	1,2223
40 µg/cm ³	0,8269	0,8332	0,8130
20 µg/cm ³	0,4118	0,4177	0,4007

Tabla VIII: Linealidad. Parámetros de la recta de regresión y análisis de la varianza de la regresión.

	MITONAFIDE	AMONAFIDE . 2HCl
N° total de datos (n)	18	15
Intervalo de linealidad (μg)	1,40-5,25	0,54-2,70
Coefficiente de correlación "r"	0,9998	0,9996
Coefficiente de determinación "r ² "	0,9996	0,9992
Pendiente "b" (μg^{-1})	0,3362	0,7689
Desviación estándar de "b" (μg^{-1})	0,0018	0,0059
Ordenada en el origen "a" (μg)	0,001	0,004
Desviación estándar de "a" (μg)	0,006	0,011
C.V. residual (%)	0,90	1,41
Test de ANOVA "F" regresión	35813,99**	16985,68**
"F" modelo lineal	0,08	0,06
Test "t" de proporcionalidad	0,206	0,415

**P<0,01

Tabla IX: Sensibilidad del método analítico.

	MITONAFIDE	AMONAFIDE . 2HCl
Sensibilidad de calibrado (μg^{-1})	0,3362	0,7689
Sensibilidad analítica media (μg^{-1})	43,31	52,30
Capacidad discriminante (μg)	0,13	0,11

Tabla X: Repetibilidad. Resultados del análisis cromatográfico.

MITONAFIDE			
x teórica ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	y (M-I)	y (M-II)	
150	1,8134	1,7746	
	1,8139	1,8090	
	1,8303	1,8290	
	1,7933	1,8528	
	1,8214	1,8501	
	1,7947	1,8125	
100	1,2311	1,1918	
	1,2093	1,2339	
	1,2334	1,2265	
	1,2238	1,1938	
	1,2064	1,2403	
	1,2197	1,2359	
50	0,6137	0,5981	
	0,6119	0,6497	
	0,6162	0,6300	
	0,6072	0,6439	
	0,6185	0,6270	
	0,6125	0,6459	
AMONAFIDE			
x teórica ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	y (A-I)	y (A-II)	y (A-III)
90	1,7726	1,7643	1,7624
	1,7974	1,6465	1,8435
	1,7800	1,6408	1,8092
	1,7932	1,8512	1,7198
	1,8023	1,8885	1,7507
	1,7792	1,6083	1,8477
60	1,2428	1,1669	1,2085
	1,1745	1,1543	1,2700
	1,2288	1,1595	1,2595
	1,1785	1,1321	1,2234
	1,1933	1,1789	1,2321
	1,2258	1,1805	1,1920
30	0,5823	0,5496	0,5670
	0,5797	0,5788	0,5979
	0,6255	0,5376	0,5851
	0,6006	0,5810	0,6135
	0,5969	0,5594	0,6231
	0,6122	0,5653	0,5742

Tabla XI: Reproducibilidad. Resultados del análisis cromatográfico.

		y (día 1°)	y (día 2°)	y (día 3°)	y (día 4°)
M-I	100 µg/cm³	1,2342	1,2237	1,2386	1,2464
		1,2222	1,2503	1,2344	1,2546
M-II	100 µg/cm³	1,2113	1,2251	1,2359	1,2380
		1,2133	1,2345	1,2312	1,2226
A-I	60 µg/cm³	1,1979	1,1775	1,2093	1,2106
		1,1942	1,1922	1,1912	1,1940
A-II	60 µg/cm³	1,1528	1,1308	1,1543	1,1358
		1,1655	1,1293	1,1321	1,1509
A-III	60 µg/cm³	1,1907	1,2091	1,2085	1,2119
		1,2060	1,1992	1,1920	1,2220

Tabla XII: Precisión intraensayo. Resultados del análisis cromatográfico.

MITONAFIDE	1,2323	1,2170	1,2243	1,2210	1,2170
	1,2391	1,2273	1,2212	1,2229	1,2170
AMONAFIDE	1,1607	1,1617	1,1533	1,1563	1,1450
	1,1477	1,1475	1,1470	1,1479	1,1674

Tabla XIII: Precisión. Parámetros estadísticos.

MITONAFIDE	M-I			M-II					
	x teórico (µg/cm³)	150	100	50	150	100	50		
C.V. repetib. (%)	0,81	0,85	0,65	1,63	1,38	3,16			
n° de réplicas (aceptación=5%)	1	1	1	1	1	3			
C.V. reproduc. (%)	0,96			0,85					
Test F-Snedecor	1,14								
AMONAFIDE	A-I			A-II			A-III		
	90	60	30	90	60	30	90	60	30
C.V. repetib. (%)	0,66	2,38	2,90	2,91	1,54	2,97	2,91	2,39	3,63
n° de réplicas (aceptación=5%)	1	2	3	3	1	3	3	2	4
C.V. reproduc. (%)	0,87			1,18			0,86		

Tabla XIV: Exactitud. Porcentaje de recuperación de la cantidad de analito presente en la muestra.

MITONAFIDE			
x teórica ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	M-I	M-II	
150	100,15	99,15	
	100,18	101,09	
	101,09	102,23	
	99,03	103,58	
	100,60	103,43	
	99,11	101,29	
100	101,62	99,10	
	99,80	102,69	
	101,73	102,06	
	101,01	99,27	
	99,56	103,24	
	100,67	102,86	
50	100,16	97,14	
	99,86	105,92	
	100,58	102,58	
	99,08	104,94	
	100,96	102,06	
	99,96	105,28	
AMONAFIDE			
x teórica ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	A-I	A-II	A-III
90	95,38	94,93	91,99
	96,71	88,61	96,19
	95,78	88,31	94,41
	96,49	99,60	89,79
	96,98	101,60	91,39
	95,73	86,57	96,41
60	100,42	94,30	94,97
	94,92	93,28	99,75
	99,28	93,72	98,93
	95,23	91,50	96,13
	96,43	95,27	96,80
	99,05	95,40	93,68
30	94,47	89,20	90,30
	94,07	93,90	95,10
	101,43	87,27	93,10
	97,43	94,27	97,53
	96,83	90,80	99,00
	99,30	91,73	91,43

Tabla XV: Exactitud. Parámetros estadísticos.

	M-I	M-II	A-I	A-II	A-III
F-Snedecor	2,01	0,10	1,71	0,71	1,42
Recuperación media (%)	100,73	101,54	97,55	93,91	96,71
C.V. (%)	0,90	1,83	2,38	1,54	2,39
t-Student	1,99	2,06	2,52	9,69**	3,37*

* $0,05 > P > 0,01$ ** $P < 0,01$

Tabla XVI: Exactitud del método para comprimidos A-II y A-III, incrementando el volumen del líquido extractor. Parámetros estadísticos.

	A-II	A-III
Recuperación media (%)	98,90	98,85
C.V. (%)	4,47	1,18
t-Student	0,60	2,39

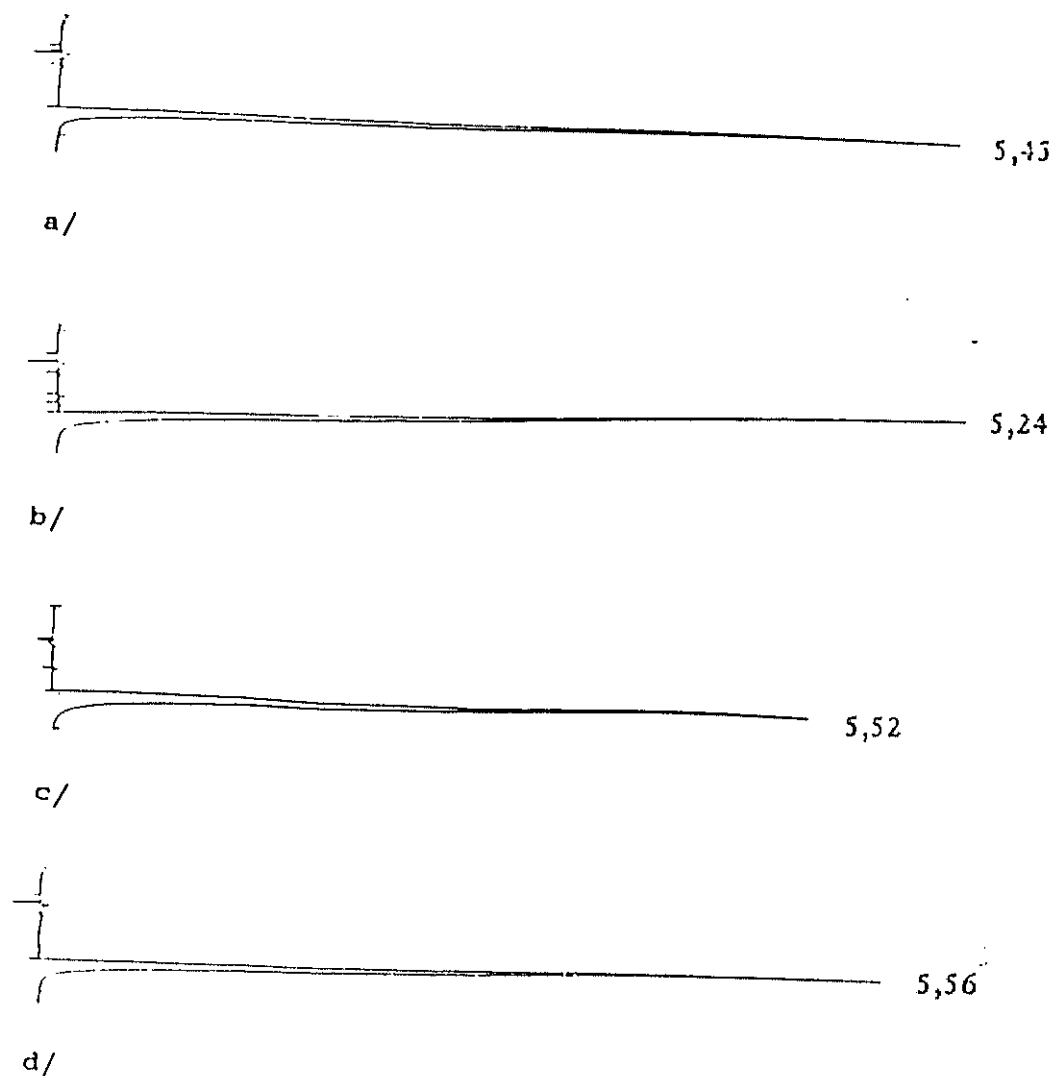


Figura 4. Cromatogramas de Mitonafide: a/ Solo.

- b/ En los comprimidos M-I recientemente preparados.
- c/ En los comprimidos M-I envejecidos durante 19 semanas a 90°C.
- d/ En los comprimidos M-I envejecidos durante 19 semanas a 45°C y 80% H.R.

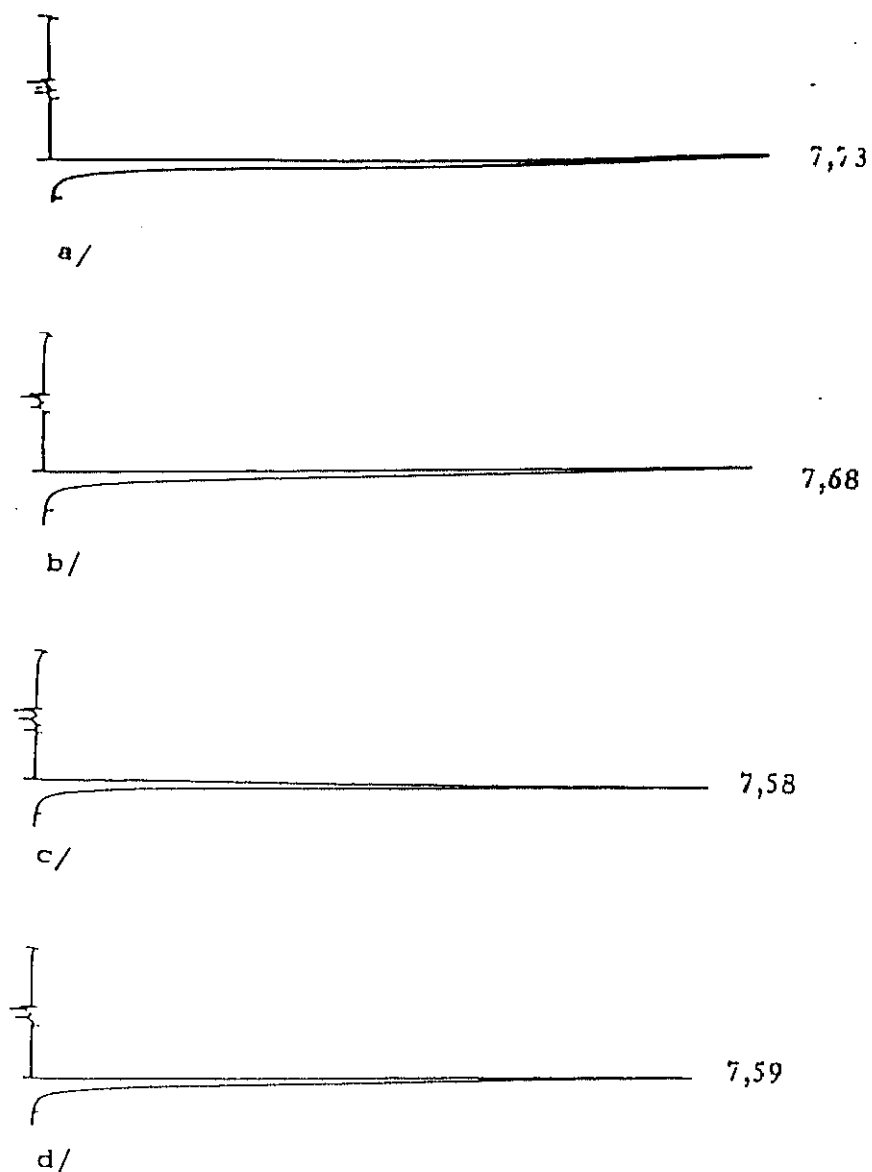


Figura 5. Cromatogramas de Amonafide.2HCl: a/ Solo.

b/ En los comprimidos A-III recientemente preparados

c/ En los comprimidos A-III envejecidos durante 19 semanas a 90°C.

d/ En los comprimidos A-III envejecidos durante 19 semanas a 45°C y 80% H.R.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

TITULO: DESARROLLO GALENICO DE COMPRIMIDOS DE DOS NUEVOS
ANTICANCEROSOS (MITONAFIDE Y AMONAFIDE.2HCl) :
ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

II
de IV Vol.

Memoria presentada para optar al grado de Doctor por:
MARIA ESTHER GIL ALEGRE

Dirigida por: Dra. Dña. MARIA ANTONIA CAMACHO SANCHEZ
Y
Dra. Dña. ANA ISABEL TORRES SUAREZ

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGIA FARMACEUTICA

Madrid, Septiembre 1.995

5. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD.

5.1. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD.

Caracterización de los comprimidos recientemente preparados.

5.1.1. METODO

La caracterización de los comprimidos se ha llevado a cabo según lo indicado en las Farmacopeas (119-121), teniendo en cuenta las exigencias más restrictivas en el caso de que existan diferencias entre los códigos, en cuanto a los parámetros en ellos especificados. En caso contrario se ha recurrido a la bibliografía especializada.

5.1.1.1. DIMENSIONES.

Se determinan las dimensiones de 5 comprimidos usando un pie de rey. Se miden el diámetro y la altura en los comprimidos con Amonafide.2HCl. En el caso de los comprimidos con Mitonafide, al ser convexos, se miden el diámetro (a), la altura de los bordes (b) y la altura de la parte central (c):



Se calcula el valor medio y su desviación estándar.

5.1.1.2. ASPECTO FISICO.

Se describe el aspecto físico de 10 comprimidos. Se observa el color, la presencia de moteado, la textura de la superficie (lisa, rugosa) y el aspecto de la misma (brillante, mate).

5.1.1.3. PESO.

Se pesan individualmente 20 comprimidos (4).

Se calcula el peso medio y su desviación estándar. Se determina la uniformidad de peso y la desviación respecto al peso teórico del valor medio.

5.1.1.4. FRIABILIDAD.

Se sigue la metodología de la USP 23 (122), excepto el modelo de friabilómetro. El aparato empleado es un friabilómetro Erweka con un bombo de 20 cm de diámetro externo que presenta 12 paletas o costillas internas de 3,5 cm de longitud. P. Ridgway (123) afirma que el friabilómetro modelo Erweka simula más la abrasión que la resistencia al impacto, a diferencia del modelo Roche (recomendado en la USP 23), porque tiene muchas costillas internas. Sin embargo, el modelo Roche es el más utilizado.

5.1.1.5. RESISTENCIA A LA FRACTURA.

Se determina sobre 5 comprimidos empleando un durómetro Erweka con una escala de fuerza aplicada, graduada en 0,250 Kg y que oscila entre 0 y 15 Kg. Se mide la carga mínima necesaria para provocar la ruptura diametral del eje mayor del comprimido.

Se calcula el valor medio y su desviación estándar.

5.1.1.6. TIEMPO DE DISGREGACION.

Se emplean 1000 cm³ de HCl 0,1N a 37±0,3°C como medio.

Como valores representativos se toman el tiempo que tardan en disgregarse completamente los 6 comprimidos ensayados, el tiempo medio

y su desviación estándar.

5.1.1.7. PERFIL DE DISOLUCION.

Se emplean el aparato 2 (paletas) a 100 r.p.m. y 900 cm³ de HCl 0,1±0,05N a 37±0,2°C como líquido de ataque.

Numerosos autores han destacado que la hidrodinámica del aparato 1 (castillo) es pobre y presenta grandes diferencias de velocidad del líquido de ataque en distintos puntos del aparato (43,102); la propia USP 23 recomienda el aparato 2 cuando la forma farmacéutica a ensayar sea comprimidos (124). Por otro lado, hay que considerar, que una expansión del comprimido durante el envejecimiento modifica su densidad y por lo tanto su flotabilidad, lo cual puede conducir a una aparente disminución de la velocidad de disolución (31).

Como se indicó en el apartado "Antecedentes", las características de solubilidad de ambos principios activos son tales que se estima que "in vivo" se disolverán mayoritariamente a nivel gástrico, por ello se emplea HCl 0,1N como líquido de ataque.

Los parámetros que requieren un control más estricto son la temperatura del medio de disolución y la velocidad de agitación, ya que cambios en los mismos provocan los efectos más profundos sobre la velocidad de cesión del principio activo en comprimidos (125).

Los tiempos de extracción de muestra se ajustan en función de la evolución del proceso de disolución.

El volumen de muestra es de 3 cm³, sin reposición. Se filtra por 0,45µm, se preparan diluciones en agua 1:10 ó 2:10 en el caso del Mitonafide y 1,5:10 ó 1,5:50 en el caso del Amonafide.2HCl y se valoran por espectrofotometría UV, según el método analítico validado para cada uno de los principios activos (86), siempre y cuando, la posible degradación del principio activo no altere los resultados experimentales. La longitud de onda de máxima absorbancia es de 222,2nm para el Mitonafide y de 232,5nm ó 235,6nm para Amonafide.2HCl en

diluciones 1,5:10 ó 1,5:50, respectivamente.

El tiempo máximo de ensayo es de 24 horas.

La cantidad de principio activo disuelto se expresa en porcentaje respecto al contenido del comprimido, que coincide, teóricamente, con la dosis (100 mg de Mitonafide ó 200 mg de Amonafide) en los comprimidos recientemente preparados.

Puesto que el objetivo de la presente memoria es llevar a cabo un estudio comparativo de la estabilidad de diferentes comprimidos, el proceso de disolución del principio activo incluido en los mismos se evalúa a través de las representaciones gráficas del porcentaje disuelto de principio activo "versus" tiempo. Según algunos autores, ésta es la forma más adecuada, tanto para estudiar la estabilidad de esta característica de los comprimidos (31), como para hacer una previsión de la posible alteración con el tiempo de la biodisponibilidad (33,34) del principio activo.

Para describir cuantitativamente el perfil de disolución se recurre a la modelización matemática empírica, ajustando expresiones algebraicas polinómicas y exponenciales a los datos experimentales (valores medios de porcentaje de principio activo disuelto a cada tiempo de ensayo), mediante el sistema de mínimos cuadrados ponderados.

Para discernir acerca de la bondad de un ajuste se utilizan diferentes criterios: 1.- Respecto a los residuales:

- * valor del sumatorio de residuales al cuadrado con pesos estadísticos (WSSQ).
- * representación gráfica: test de las rachas.

2.- Respecto a los parámetros de la ecuación:

- * test "t" de redundancia de un parámetro, para comprobar si difiere significativamente de cero ($P=0,05$).

La estrategia para la discriminación entre modelos matemáticos alternativos para un mismo sistema es comparar la bondad de los dos ajustes (WSSQ, test de las rachas, test "t" de redundancia de parámetros).

Si el ajuste es igual de bueno para varias ecuaciones, se elige aquella con menor número de parámetros.

Si dos modelos 1 y 2 con m_1 y m_2 parámetros, siendo $m_1 > m_2$, son ajustados a los mismos datos y se obtiene $WSSQ_1 > WSSQ_2$, se aplica el test estadístico "F" que establece si la mejora en el sumatorio de residuales es o no estadísticamente significativa ($P > 0,05$); en caso negativo se acepta el modelo 1.

El tipo de ecuación seleccionado sirve de modelo para el ajuste de los datos experimentales obtenidos en cada uno de los comprimidos ensayados, lo que permite el cálculo, individualmente, de los estimados correspondientes a los parámetros amodelísticos: t_0 (tiempo de latencia), t_{70} (tiempo que tarda en disolverse el 70% del contenido en principio activo del comprimido), t_{100} (tiempo que tarda en disolverse el 100% del contenido en principio activo), ED^t (eficacia de disolución a un tiempo determinado de ensayo) y Q_t (porcentaje de principio activo disuelto a un tiempo determinado de ensayo). El tiempo en el que se calculan los valores de ED y Q es de 60 minutos para los comprimidos de Mitonafide y de 10 minutos para los de Amonafide.2HCl. En cada caso, se expresa el valor medio de estos parámetros de disolución y su desviación estándar.

5.1.1.8. CONTENIDO EN PRINCIPIO ACTIVO.

Se determina el contenido en principio activo de 20 comprimidos (123) individualmente, empleando como técnica analítica la cromatografía líquida de alta resolución. Se sigue la metodología descrita en el apartado de "Validación".

Se calcula el contenido medio y su desviación estándar. Se evalúa la uniformidad de los resultados y la desviación respecto al contenido teórico del valor medio.

5.1.2. RESULTADOS

COMPRESIONADOS CON MITONAFIDE

Son comprimidos biconvexos de color amarillo claro, con la superficie lisa y brillante.

Los comprimidos M-I presentan un moteado amarillo-blanquecino, uniformemente repartido.

Los resultados obtenidos en la determinación de las dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación están incluidos en las tablas XVII y XXI para los comprimidos M-I y M-II, respectivamente.

Tras la modelización matemática de los resultados experimentales del ensayo de disolución (principio activo disuelto "Q(t)" frente al tiempo "t"), la ecuación que mejor se ajusta es biexponencial y del tipo:

$$Q(t) = B'(1 - e^{-k't}) + B''(1 - e^{-k''t}) + C$$

Los datos experimentales del ensayo y los valores de los parámetros de la ecuación que define al perfil de disolución del Mitonafide en los comprimidos M-I y M-II están recogidos en las tablas XVIII y XXII.

En las figuras 6 y 7 se representan gráficamente los valores medios con sus límites de confianza ($P=0,05$) y el perfil de disolución dado por los estimados a partir de la ecuación de ajuste.

En las tablas XIX y XXIII se muestran los valores de los parámetros amodelísticos t_0 , t_{70} , t_{100} , ED^{60} y Q_{60} calculados para los comprimidos M-I y M-II.

Los resultados de la cuantificación de Mitonafide en los comprimidos M-I y M-II así como los de la determinación de la uniformidad de contenido y de la desviación respecto al valor teórico están expuestos en las tablas XX y XXIV.

Todos los comprimidos estudiados (M-I y M-II) son aptos. Por tanto, todos ellos se incluyen en el programa de estabilidad previsto.

Tabla XVII: Caracterización de los comprimidos M-I recientemente preparados: dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación.

DIMENSIONES									
n	1	2	3	4	5	\bar{x}	σ	C.V.	
a (cm)	0,705	0,705	0,705	0,705	0,705	0,705			
b (cm)	0,465	0,470	0,465	0,470	0,465	0,467	0,003	0,64*	
c (cm)	0,200	0,205	0,205	0,205	0,205	0,204	0,002	0,98*	
PESO									
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	171,8	5	171,8	9	172,2	13	173,0	17	171,6
2	171,1	6	171,5	10	174,4	14	172,0	18	171,1
3	174,1	7	172,5	11	173,5	15	172,3	19	171,9
4	171,9	8	172,9	12	172,0	16	171,1	20	174,2
Peso teórico = 172,1 mg									
Peso medio = 172,4 mg $\sigma = 1,0$ mg C.V. = 0,58*									
Límites de confianza de los pesos individuales (P=0,01): 169,7 - 174,9 mg									
Límites de confianza del peso medio (P=0,01): 171,8 - 172,9 mg									
Desviación respecto al peso teórico = 0,17*									
Máxima desviación respecto al peso medio:									
límite superior = 1,19*									
límite inferior = 0,72*									
RESISTENCIA A LA FRACTURA									
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg
1	5,50	2	5,50	3	6,00	4	5,50	5	4,75
$\bar{x} = 5,45$ Kg $\sigma = 0,45$ Kg C.V. = 8,26*									
FRIABILIDAD									
Peso inicial = 3,4360 g					Peso final = 3,4272 g				
Pérdida de peso = 0,26*									
TIEMPO DE DISREGACION									
n	min	n	min	n	min	tiempo mayor = 2,53 min			
1	1,18	3	2,07	5	2,40	tiempo medio = 2,01 min			
2	1,68	4	2,20	6	2,53	$\sigma = 0,50$ min C.V. = 24,97*			

Tabla XVIII: Caracterización de los comprimidos M-I recientemente preparados: disolución del Mitonafide. Porcentaje disuelto de principio activo a lo largo del ensayo y parámetros de la ecuación de ajuste:

$$Q(\%) = B'(1 - e^{-k't}) + B''(1 - e^{-k''t}) + C$$

tiempo (min)	Comprimidos						V medio experim.
	1	2	3	4	5	6	
2	13,01	14,71	17,05	13,20	16,94	15,31	15,10
4	28,97	29,66	32,66	31,29	34,64	31,82	31,84
6	41,74	42,42	43,13	42,90	44,61	43,37	43,04
8	50,36	51,52	51,79	52,26	50,79	50,97	51,20
10	56,70	57,92	58,21	59,22	59,75	58,25	58,19
12,5	63,05	65,37	66,27	66,60	66,15	66,33	65,78
15	70,09	71,06	70,34	71,08	67,74	70,00	70,20
17,5	75,02	75,69	76,03	76,37	73,70	75,69	75,42
20	79,12	79,49	78,73	79,80	78,19	79,43	79,13
25	85,02	85,13	86,13	86,38	82,66	85,27	85,10
30	88,76	88,40	89,48	89,26	87,90	88,97	88,80
40	95,29	93,61	94,16	93,45	92,74	93,85	93,85
50	98,47	95,69	96,69	95,66	95,21	96,47	96,36
60	99,28	96,98	97,88	96,70	95,99	97,52	97,39
90	100,00	100,00	100,00	99,42	100,00	100,00	99,90
120	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
180				100,00			

Parámetros de la ecuación de ajuste:

$B'(\%) = 70,59$	$\sigma = 3,43$	$B''(\%) = 35,68$	$\sigma = 2,84$
$k'(1/\text{min}) = 0,061$	$\sigma = 0,002$	$k''(1/\text{min}) = 0,239$	$\sigma = 0,003$
$C(\%) = -6,21$	$\sigma = 1,76$		

Tabla XIX: Caracterización de los comprimidos M-I recientemente preparados: disolución del Mitonafide. Parámetros amodelísticos.

n	t0 (min)	t70 (min)	t100 (min)	Q60' (%)	ED60' (%)
1	0	14,77	120,00	99,27	79,10
2	0	14,43	115,00	99,47	78,48
3	0	14,39	120,00	99,14	79,30
4	0	14,02	115,00	99,53	78,92
5	0	14,89	120,00	99,25	78,00
6	0	14,47	120,00	99,19	78,90
x	0	14,50	118,33	99,37	78,80
σ	0	0,31	2,58	0,11	0,18
C.V		2,14%	2,18%	0,11%	0,61%

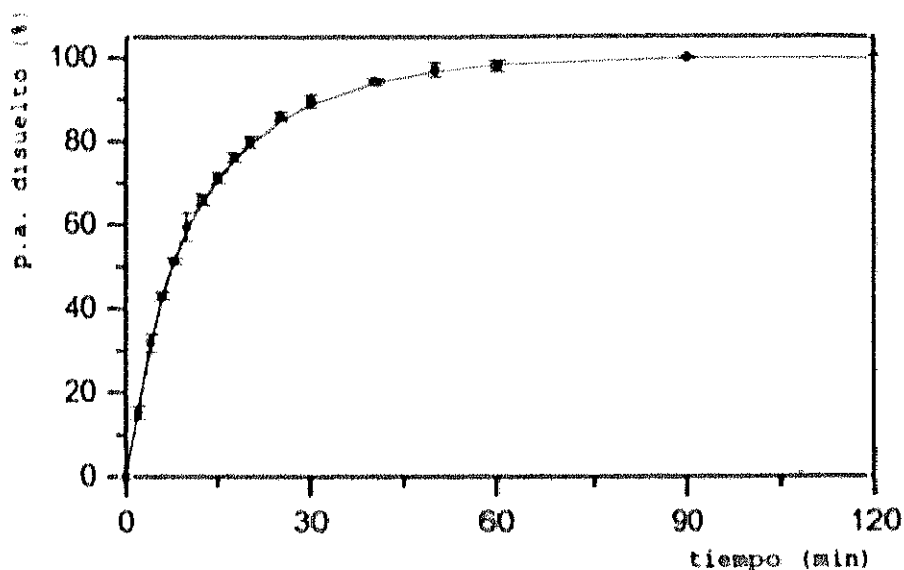


Figura 6. Perfil de disolución del Mitonafide en los comprimidos M-I recientemente preparados.

Tabla XX: Caracterización de los comprimidos M-I recientemente preparados: contenido en principio activo.

n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	98,61	6	98,87	11	103,32	16	102,25
2	98,05	7	100,38	12	101,00	17	100,79
3	101,04	8	102,86	13	103,23	18	101,90
4	100,04	9	103,98	14	103,03	19	102,90
5	98,06	10	103,22	15	102,97	20	103,58

Contenido teórico en principio activo = 100 mg
 Contenido medio = 101,50 mg $\sigma = 1,95 \text{ mg}$ C.V. = 1,92%
 Límites de confianza de los valores individuales (P=0,01): 96,55-106,45 mg
 Límites de confianza del valor medio (P=0,01): 100,39-102,61 mg
 Desviación respecto al contenido teórico = 1,50%
 Máxima desviación respecto al contenido medio:
 límite superior = 2,44%
 límite inferior = 3,40%

Tabla XXI: Caracterización de los comprimidos M-II recientemente preparados: dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación.

DIMENSIONES									
n	1	2	3	4	5	\bar{x}	σ	C.V.	
a (cm)	0,705	0,705	0,705	0,705	0,705	0,705			
b (cm)	0,465	0,470	0,465	0,475	0,475	0,470	0,005	1,06%	
c (cm)	0,215	0,225	0,220	0,225	0,225	0,222	0,004	1,80%	
PESO									
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	183,8	6	186,3	11	185,5	16	183,4	17	183,8
2	181,2	7	185,8	12	183,5	17	184,9	18	184,4
3	184,2	8	186,1	13	184,7	18	184,0	19	185,1
4	186,0	9	185,7	14	185,5	19	183,7	20	183,6
Peso teórico = 181,7 mg									
Peso medio = 184,6 mg $\sigma = 1,3$ mg C.V. = 0,70%									
Límites de confianza de los pesos individuales (P=0,01): 181,4 - 187,7 mg									
Límites de confianza del peso medio (P=0,01): 183,85 - 185,27 mg									
Desviación respecto al peso teórico = 1,60%									
Máxima desviación respecto al peso medio:									
límite superior = 0,94%									
límite inferior = 1,82%									
RESISTENCIA A LA FRACTURA									
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg
1	5,25	2	5,25	3	5,50	4	5,00	5	4,75
$\bar{x} = 5,15$ Kg $\sigma = 0,29$ Kg C.V. = 5,63%									
FRIABILIDAD									
Peso inicial = 3,7101 g					Peso final = 3,7100 g				
Pérdida de peso = 0,22%									
TIEMPO DE DISGREGACION									
n	min	n	min	n	min	tiempo mayor = 9,02 min			
1	7,35	3	8,67	5	9,81	tiempo medio = 8,92 min			
2	8,12	4	9,02	6	10,50	$\sigma = 1,14$ min C.V. = 1,28%			

Tabla XXII: Caracterización de los comprimidos M-II recientemente preparados: disolución del Mitonafide. Porcentaje disuelto de principio activo a lo largo del ensayo y parámetros de la ecuación de ajuste:

$$Q(t) = B'(1-e^{-k't}) + B''(1-e^{-k''t}) + C$$

tiempo (min)	Comprimidos						V medio experim.
	1	2	3	4	5	6	
3	14,93	21,87	15,76	16,76	15,53	15,79	16,77
6	35,30	37,97	25,58	31,91	38,05	32,09	33,48
9	55,07	54,17	46,84	49,62	52,51	49,89	51,46
12	63,09	64,38	55,64	67,40	67,90	61,76	63,36
15	71,09	69,33	66,06	70,85	69,57	67,75	69,11
21	79,36	73,03	71,18	75,96	74,29	72,74	74,43
30	83,28	78,22	77,26	79,47	78,45	77,85	79,09
45	87,81	79,18	81,25	82,96	83,56	82,40	82,69
60	88,43	83,52	91,40	84,19	88,10	89,68	87,55
90	91,55	84,47	91,94	86,09	90,91	91,39	89,39
120	94,65	88,04	92,48	90,58	93,70	93,09	92,09
180	97,68	91,59	95,48	95,04	95,75	95,68	95,20
240	98,55	94,41	97,10	96,51	96,01	96,49	96,51
300	99,42	98,14	98,99	98,66	98,72	98,92	98,81
360	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
420	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Parámetros de la ecuación de ajuste:

$B'(*) = 93,42$	$\sigma = 2,39$	$B''(*) = 25,02$	$\sigma = 0,99$
$k'(1/min) = 0,139$	$\sigma = 0,007$	$k''(1/min) = 0,007$	$\sigma = 0,001$
$C(*) = -16,20$	$\sigma = 2,69$		

Tabla XXIII: Caracterización de los comprimidos M-II recientemente preparados: disolución del Mitonafide. Parámetros amodelísticos.

n	t0 (min)	t70 (min)	t100 (min)	Q50' (%)	ED50' (%)
1	1,48	14,83	330,00	87,20	73,03
2	1,02	16,72	360,00	82,19	69,10
3	0,00	15,38	300,00	85,92	68,97
4	1,80	15,99	344,61	84,94	69,95
5	1,95	15,66	390,00	86,38	70,68
6	1,07	17,58	350,00	84,81	69,92
x	1,22	16,03	345,77	85,24	70,28
s	0,70	0,99	30,07	1,74	1,49
C.V.	57,38%	6,18%	8,70%	2,04%	2,12%

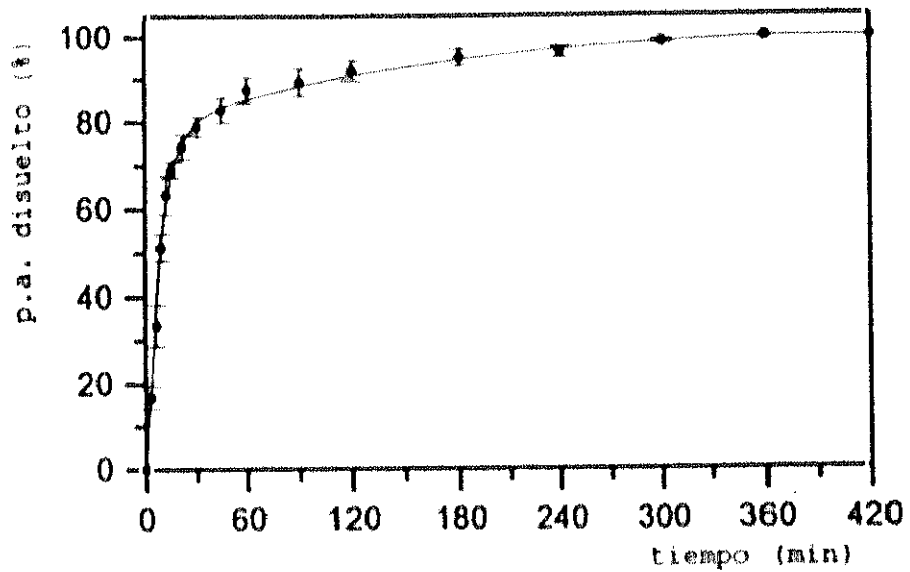


Figura 7. Perfil de disolución del Mitonafide en los comprimidos M-II recientemente preparados.

Tabla XXIV: Caracterización de los comprimidos M-II recientemente preparados: contenido en principio activo.

n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	100,65	6	102,86	11	104,84	16	105,16
2	104,24	7	102,86	12	105,61	17	101,73
3	102,06	8	101,33	13	105,19	18	103,48
4	100,82	9	104,21	14	103,45	19	99,63
5	103,23	10	102,46	15	103,04	20	102,06
Contenido teórico en principio activo = 100 mg							
Contenido medio = 103,05 mg $\sigma = 1,60$ mg $C.V. = 1,55\%$							
Límites de confianza de los valores individuales (P=0,01): 98,99-107,10 mg							
Límites de confianza del valor medio (P=0,01): 102,14-103,95mg							
Desviación respecto al contenido teórico = 3,05%							
Máxima desviación respecto al contenido medio:							
límite superior = 2,49%							
límite inferior = 3,31%							

COMPRIMIDOS CON AMONAFIDE.2HCl

Son comprimidos planos con aristas biseladas y superficie lisa de color amarillo-naranja.

Los comprimidos A-III presentan un intenso moteado blanquecino.

Las dimensiones, el peso, la friabilidad, la resistencia a la fractura y el tiempo de disgregación de los comprimidos A-I, A-II y A-III se muestran en las tablas XXV, XXIX y XXXIII.

La expresión matemática que mejor se ajusta al perfil de disolución definido por el porcentaje de Amonafide disuelto "Q(t)" frente al tiempo "t" es monoexponencial en todos los tipos de comprimidos estudiados:

$$Q(t) = B'(1 - e^{-k't})$$

Los datos experimentales del ensayo y los valores de los parámetros B' y k' de la ecuación están recogidos en las tablas XXVI, XXX y XXXIV para los comprimidos A-I, A-II y A-III.

En las figuras 8, 9 y 10 están representados gráficamente los valores medios con sus límites de confianza (P=0,05) y el perfil de disolución dado por los estimados a partir de la ecuación de ajuste.

En las tablas XXVII, XXXI y XXXV se muestran los valores de los parámetros amodelísticos t_0 , t_{70} , t_{100} , ED^{10} y Q_{10} calculados para los tres tipos de comprimidos con Amonafide.2HCl.

Los datos de contenido en Amonafide de los comprimidos A-I, A-II y A-III, la determinación de la uniformidad de los resultados y de la desviación respecto al valor teórico están incluidos en las tablas XXVIII y XXXII y XXXVI.

Todos los comprimidos estudiados (A-I, A-II y A-III) son aptos. Por tanto, todos ellos se incluyen en el programa de estabilidad previsto.

Tabla XXV: Caracterización de los comprimidos A-I recientemente preparados: dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación.

DIMENSIONES									
n	1	2	3	4	5	\bar{x}	σ	C.V.	
a (cm)	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105			
b (cm)	0,375	0,385	0,380	0,390	0,390	0,384	0,006	1,70%	
PESO									
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	408,9	5	405,7	9	411,9	13	406,9	17	404,6
2	412,1	6	409,9	10	412,8	14	410,1	18	400,9
3	409,3	7	404,4	11	403,7	15	403,3	19	401,2
4	415,5	8	413,1	12	399,9	16	404,7	20	410,0
Peso teórico = 402,5 mg									
Peso medio = 407,5 mg $\sigma = 4,5$ mg C.V. = 1,10%									
Límites de confianza de los pesos individuales (P=0,01): 396,0 - 419,0 mg									
Límites de confianza del peso medio (P=0,01): 404,9 - 410,1 mg									
Desviación respecto al peso teórico = 1,24%									
Máxima desviación respecto al peso medio:									
límite superior = 1,96%									
límite inferior = 1,86%									
RESISTENCIA A LA FRACTURA									
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg
1	9,00	2	8,25	3	9,00	4	9,00	5	8,50
$\bar{x} = 8,75$ Kg $\sigma = 0,35$ Kg C.V. = 4%									
FRIABILIDAD									
Peso inicial = 8,1680 g					Peso final = 8,1476 g				
Pérdida de peso = 0,25%									
TIEMPO DE DISGREGACION									
n	min	n	min	n	min	tiempo mayor = 14,50 min			
1	12,25	3	13,25	5	14,25	tiempo medio = 13,42 min			
2	12,75	4	13,50	6	14,50	$\sigma = 0,86$ min C.V. = 6,42%			

Tabla XXVI: Caracterización de los comprimidos A-I recientemente preparados: disolución del Amonafide. Porcentaje disuelto de principio activo a lo largo del ensayo y parámetros de la ecuación de ajuste:

$$Q(t) = B \cdot (1 - e^{-k \cdot t})$$

tiempo (min)	Comprimidos						V medio experim.
	1	2	3	4	5	6	
3	19,37	15,69	23,34	23,01	18,51	18,32	19,04
6	24,03	28,37	32,27	31,45	24,29	24,60	27,50
9	33,66	39,65	44,84	43,49	36,73	38,77	39,52
12	52,54	53,32	56,02	54,50	47,16	47,09	51,77
15	63,03	62,78	67,30	63,79	56,16	55,24	61,38
18	68,80	72,69	71,66	72,91	62,88	62,72	68,61
21	72,00	80,65	76,14	79,61	70,13	71,21	74,96
24	75,20	87,96	82,25	84,98	76,81	76,28	80,57
27	79,31	90,96	91,45	91,43	82,07	81,87	86,18
30	83,41	95,38	93,38	97,38	85,39	87,17	90,31
33	87,36	97,58	96,91	100,00	92,00	91,68	94,26
36	93,52	99,14	99,56		96,52	94,89	96,73
39	100,00	100,00	100,00		97,75	100,00	99,55
42					100,00		100,00
45							
48				100,00			
51							
54	100,00	100,00	100,00			100,00	
57					100,00	100,00	

Parámetros de la ecuación de ajuste:

$B^*(\%) = 116,30$ $\sigma = 1,67$
 $k' (1/\text{min}) = 0,047$ $\sigma = 0,003$

Tabla XXVII: Caracterización de los comprimidos A-I recientemente preparados: disolución del Amonafide. Parámetros estadísticos.

n	t ₀ (min)	t ₇₀ (min)	t ₁₀₀ (min)	Q10' (%)	ED10' (%)
1	0	10,71	41,10	41,08	21,43
2	0	14,91	29,95	44,90	23,16
3	0	17,19	36,79	50,00	28,46
4	0	17,35	32,17	48,42	27,40
5	0	22,16	43,21	40,74	22,10
6	0	21,03	39,29	41,17	22,59
x	0	18,59	37,09	44,55	24,27
σ	0	2,73	5,17	1,92	2,95
C.V.		14,68%	13,94%	4,30%	12,18%

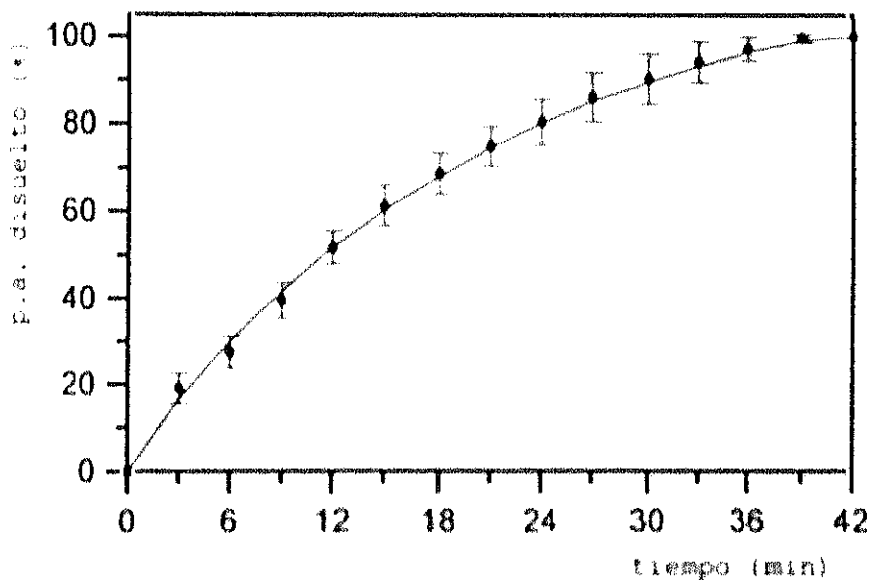


Figura 8. Perfil de disolución del Amonafide en los comprimidos A-I recientemente preparados.

Tabla XXVIII: Caracterización de los comprimidos A-I recientemente preparados: contenido en principio activo.

n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	196,73	6	183,44	11	198,20	16	203,52
2	195,11	7	194,20	12	209,60	17	194,34
3	197,90	8	196,30	13	195,59	18	199,29
4	199,16	9	198,91	14	195,16	19	204,12
5	197,50	10	196,07	15	198,91	20	197,63

Contenido teórico en principio activo = 200 mg
 Contenido medio = 197,56 mg $\sigma = 4,37$ mg C.V. = 2,22%
 Límites de confianza de los valores individuales (P=0,01): 185,07-210,05 mg
 Límites de confianza del valor medio (P=0,01): 194,76-200,35 mg
 Desviación respecto al contenido teórico = 1,22%
 Máxima desviación respecto al contenido medio:
 límite superior = 5,79%
 límite inferior = 7,15%

Tabla XXIX: Caracterización de los comprimidos A-II recientemente preparados: dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación.

DIMENSIONES									
n	1	2	3	4	5	\bar{x}	σ	C.V.	
a (cm)	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105			
b (cm)	0,350	0,355	0,360	0,355	0,355	0,355	0,003	0,05*	
PESO									
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	419,7	5	421,4	9	421,5	13	418,3	17	413,1
2	418,6	6	420,0	10	416,9	14	427,8	18	419,4
3	422,1	7	416,0	11	410,0	15	424,5	19	413,6
4	413,0	8	414,0	12	422,6	16	420,9	20	415,4
Peso teórico = 419,0 mg									
Peso medio = 418,0 mg $\sigma = 4,8$ mg C.V. = 1,14*									
Límites de confianza de los pesos individuales (P=0,01): 403,8 - 430,2 mg									
Límites de confianza del peso medio (P=0,01): 415,3 - 420,7 mg									
Desviación respecto al peso teórico = 0,24*									
Máxima desviación respecto al peso medio:									
límite superior = 2,34*									
límite inferior = 1,91*									
RESISTENCIA A LA FRACTURA									
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg
1	7,75	2	8,50	3	7,50	4	7,75	5	8,00
$\bar{x} = 7,90$ Kg $\sigma = 0,38$ Kg C.V. = 4,81*									
FRIABILIDAD									
Peso inicial = 8,3715 g					Peso final = 8,3450 g				
Pérdida de peso = 0,328									
TIEMPO DE DISGREGACION									
n	min	n	min	n	min	tiempo mayor = 5,60 min			
1	5,27	3	5,50	5	5,60	tiempo medio = 5,50 min			
2	5,47	4	5,57	6	5,60	$\sigma = 0,12$ min C.V. = 2,18*			

Tabla XIX: Caracterización de los comprimidos A-II recientemente preparados: disolución del Acetofide. Porcentaje disuelto de principio activo a lo largo del ensayo y parámetros de la ecuación de ajuste:

$$Q(t) = B(1 - e^{-k't})$$

tiempo (min)	Comprimidos						t medio experim.
	1	2	3	4	5	6	
0,5	3,86	5,13	3,61	3,72	3,70	3,94	4,01
1	7,60	10,65	9,90	11,50	8,84	9,46	9,66
2	11,99	17,25	19,07	18,53	13,69	17,17	16,28
3	26,35	26,16	26,12	22,64	19,76	28,13	24,86
4	31,82	31,00	31,73	28,18	25,66	35,76	31,02
5	36,12	39,37	39,73	31,68	32,51	41,72	36,05
6	43,42	48,34	45,29	37,33	38,60	49,90	43,81
7	53,69	55,12	50,69	41,95	42,69	56,26	50,70
8	60,08	60,34	55,92	47,71	48,81	60,25	55,52
9	69,85	69,37	61,14	54,01	54,33	65,10	62,30
10	76,48	74,70	66,49	60,61	60,84	69,80	68,15
11	81,82	77,75	74,05	65,32	65,02	73,74	72,95
12	86,03	80,77	77,68	73,55	72,64	79,85	78,42
13	91,20	82,89	81,85	77,09	75,22	84,20	82,07
14	95,09	86,65	84,21	80,90	78,64	87,96	85,57
15	96,62	91,00	87,77	83,85	82,48	92,43	89,02
16	99,10	92,64	90,51	86,51	83,47	94,43	91,11
17	99,79	97,85	93,12	89,87	86,72	97,58	94,15
18	100,00	100,00	95,86	91,53	89,67	100,00	96,18
19			97,76	95,42	91,22		97,40
20			100,00	100,00	94,71		99,12
21					100,00		100,00
22							
23	100,00	100,00				100,00	
24							
25			100,00	100,00			
26					100,00		
Parámetros de la ecuación de ajuste:							
B' (*) = 136,20				σ = 5,53			
k' (1/min) = 0,070				σ = 0,006			

Tabla XXXI: Caracterización de los comprimidos A-II recientemente preparados: disolución del Amonafide. Parámetros estadísticos.

n	t0 (min)	t70 (min)	t100 (min)	Q10' (%)	ED10' (%)
1	0	8,5	14,78	75,69	37,93
2	0	9,71	18,09	71,89	19,60
3	0	10,56	19,59	67,46	17,36
4	0	12,09	19,82	60,43	32,29
5	0	12,27	21,39	60,68	31,53
6	0	9,69	17,82	70,09	19,90
\bar{x}	0	10,47	18,57	67,89	36,43
σ	0	1,48	2,27	6,31	3,64
C.V.		14,14%	12,22%	9,29%	9,99%

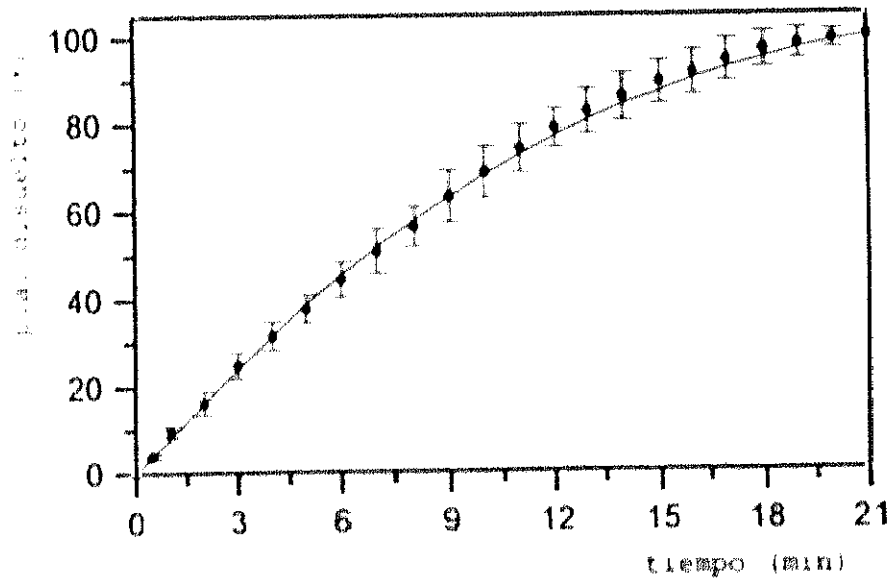


Figura 9. Perfil de disolución del Amonafide en los comprimidos A-II recientemente preparados.

Tabla XXXII: Caracterización de los comprimidos A-II recientemente preparados: contenido en principio activo.

n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	199,36	6	183,14	11	209,55	16	207,62
2	197,69	7	185,25	12	201,34	17	199,76
3	207,45	8	185,00	13	197,19	18	201,50
4	209,06	9	195,42	14	201,67	19	198,64
5	206,01	10	204,90	15	201,58	20	203,47

Contenido teórico en principio activo = 200 mg
 Contenido medio = 199,87 mg $\sigma = 1,16$ mg C.V. = 3,88%
 Límites de confianza de los valores individuales (P=0,01): 180,16-219,58 mg
 Límites de confianza del valor medio (P=0,01): 195,46-204,28 mg
 Desviación respecto al contenido teórico = 0,065%
 Máxima desviación respecto al contenido medio:
 límite superior = 5,00%
 límite inferior = 6,37%

Tabla XXXIII: Caracterización de los comprimidos A-III recientemente preparados: dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de desagregación.

DIMENSIONES									
n	1	2	3	4	5	\bar{x}	σ	C.V.	
a (cm)	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105			
b (cm)	0,315	0,310	0,305	0,315	0,310	0,311	0,005	1,34%	
PESO									
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	369,9	6	380,3	11	379,1	16	372,3	17	375,6
2	376,5	7	374,4	12	378,6	17	374,0	18	379,7
3	382,7	8	381,4	13	381,9	18	367,0	19	374,7
4	379,3	9	381,0	14	379,8	19	371,7	20	371,0
Peso teórico = 373,6 mg									
Peso medio = 376,4 mg $\sigma = 4,5$ mg C.V. = 1,19%									
Límites de confianza de los pesos individuales (P=0,01): 365,0 - 387,8 mg									
Límites de confianza del peso medio (P=0,01): 373,8 - 379,0 mg									
Desviación respecto al peso teórico = 0,75%									
Máxima desviación respecto al peso medio:									
límite superior = 1,67%									
límite inferior = 2,50%									
RESISTENCIA A LA FRACTURA									
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg
1	4,25	2	4,00	3	3,75	4	4,25	5	4,00
$\bar{x} = 4,05$ Kg $\sigma = 0,21$ Kg C.V. = 5,18%									
FRIABILIDAD									
Peso inicial = 7,5606 g					Peso final = 7,5291 g				
Pérdida de peso = 0,42%									
TIEMPO DE DESAGREGACION									
n	min	n	min	n	min	tiempo mayor = 4,92 min			
1	4,08	3	4,40	5	4,67	tiempo medio = 4,48 min			
2	4,25	4	4,58	6	4,92	$\sigma = 0,30$ min C.V. = 6,76%			

Tabla XXXIV: Caracterización de los comprimidos A-III recientemente preparados: disolución del Amonafide. Porcentaje disuelto de principio activo a lo largo del ensayo y parámetros de la ecuación de ajuste:

$$Q(t) = B'(1 - e^{-k \cdot t})$$

tiempo (min)	Comprimidos						t medio experim.
	1	2	3	4	5	6	
0,5	4,42	4,90	6,27	5,59	7,94	4,64	4,96
1	10,71	10,69	13,15	9,66	11,02	13,36	11,56
2	21,40	22,69	23,57	16,95	20,40	20,79	20,97
3	29,06	32,07	28,56	26,16	23,87	28,22	27,82
4	35,56	41,90	34,34	31,14	29,71	40,15	35,47
5	41,44	50,98	40,25	38,66	36,34	51,31	43,16
6	49,36	58,71	48,77	45,84	42,48	56,45	50,27
7	55,82	66,27	54,65	52,75	48,59	61,59	56,61
8	61,80	73,37	60,51	59,64	55,48	71,02	63,64
9	73,24	79,43	67,48	65,01	62,98	78,89	71,17
10	78,55	84,46	77,99	71,78	70,77	86,59	78,36
11	93,40	88,05	88,94	76,95	80,76	92,49	86,77
12	99,68	91,62	97,60	85,39	92,77	98,78	94,31
13	100,00	95,04	99,20	95,04	97,03	100,00	97,72
14		98,87	100,00	99,38	99,07		99,55
15		100,00		100,00	100,00		100,00
16							
17							
18	100,00					100,00	
19			100,00				
20		100,00		100,00	100,00		
Parámetros de la ecuación de ajuste:							
B'(t) = 229,50				$\sigma = 37,20$			
k' (1/min) = 0,041				$\sigma = 0,009$			

Tabla XXXV: Caracterización de los comprimidos A-III recientemente preparados: disolución del Amonafide. Parámetros amodelísticos.

n	t0 (min)	t70 (min)	t100 (min)	Q10' (%)	ED10' (%)
1	0	8,92	12,91	82,23	41,83
2	0	7,58	14,46	84,15	47,83
3	0	8,92	13,26	78,43	41,10
4	0	9,62	14,45	71,84	38,06
5	0	10,02	14,49	82,12	36,59
6	0	7,79	12,55	86,31	46,53
x	0	8,81	13,69	79,18	41,99
σ	0	0,97	0,88	6,15	4,47
C.V.		11,01%	6,43%	7,77%	10,64%

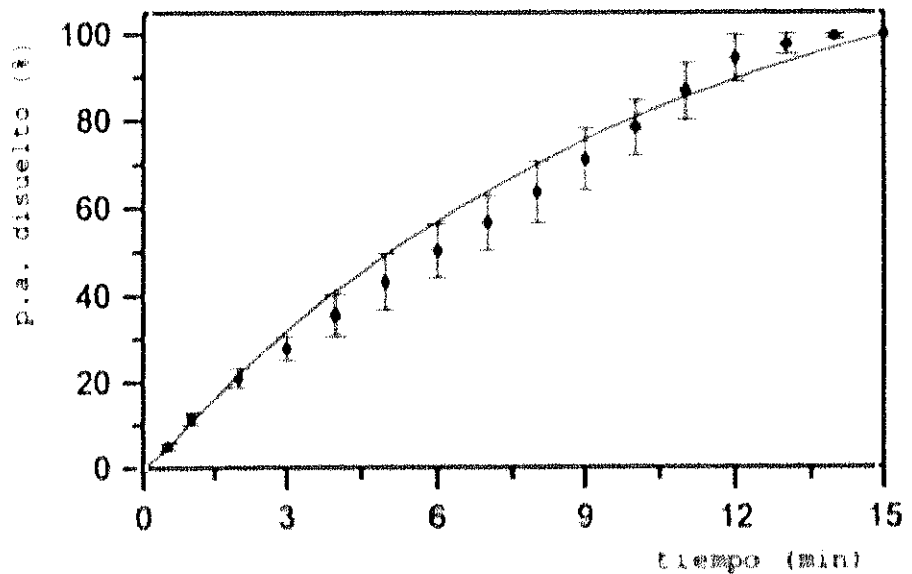


Figura 10. Perfil de disolución del Amonafide en los comprimidos A-III recientemente preparados.

Tabla XXXVI: Caracterización de los comprimidos A-III recientemente preparados: contenido en principio activo.

n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	186,81	6	189,76	11	214,80	16	191,90
2	189,21	7	210,41	12	189,59	17	211,64
3	189,69	8	191,31	13	187,03	18	191,25
4	188,15	9	184,15	14	199,13	19	187,24
5	179,96	10	192,20	15	197,50	20	197,92

Contenido teórico en principio activo = 200 mg
 Contenido medio = 193,58 mg $\sigma = 3,17$ mg $C.V. = 1,63\%$
 Límites de confianza de los valores individuales ($P=0,01$): 170,05-217,11 mg
 Límites de confianza del valor medio ($P=0,01$): 188,92-198,05 mg
 Desviación respecto al contenido teórico = 3,21%
 Máxima desviación respecto al contenido medio:
 límite superior = 10,96%
 límite inferior = 7,04%

5.2. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD.

Envejecimiento acelerado: Efecto de la humedad.

5.2.1. METODO

5.2.1.1. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.

La temperatura de almacenamiento de los comprimidos es constante (45°C) y se trabaja en dos ambientes de humedad relativa controlada (45% y 75%). Para obtener estas dos condiciones de almacenamiento (45°C -45% H.R. y 45°C -75% H.R.) se preparan soluciones saturadas de CaNa y BrNa en agua (126), respectivamente, en el interior de desecadores, se tapan éstos herméticamente y se introducen en la estufa termostaticada a 45°C . Se dejan pasar 48 horas, para que el ambiente del desecador se sature, y se comprueban las humedades relativas conseguidas utilizando el termohigrómetro.

Los comprimidos de Mitonafide o de Amonafide. 2HCl se colocan, formando una sola capa, en placas petri abiertas y se introducen en los desecadores. El número de unidades posológicas por tipo de comprimido es el necesario para realizar dos muestreos, uno a las 19 semanas de comenzado el estudio y otro al final del mismo, cuya duración está en función de los resultados obtenidos en la primera evaluación. Así, tras las 19 semanas de almacenamiento, se observa que el efecto conjunto de temperatura y humedad ambiental elevadas es más notable en los comprimidos con Amonafide. 2HCl , por eso se decide que la segunda toma de muestras se realice a las 34 semanas de almacenamiento para los comprimidos con Amonafide. 2HCl y tras 1 año de almacenamiento para los comprimidos con Mitonafide. Estas diferencias están en concordancia con el diferente comportamiento del Mitonafide y del Amonafide, como tales materias primas, frente a la humedad relativa ambiental y las temperaturas elevadas.

Una vez comenzado el estudio de estabilidad se controlan, periódicamente, tanto la humedad relativa como la temperatura del interior de los desecadores, siendo la temperatura media de $45 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y las humedades relativas ambientales medias de 45 \pm 5% y de 75 \pm 5%.

5.2.1.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPRIMIDOS.

Las características físicas de los comprimidos (aspecto físico, dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura, tiempo de disgregación y velocidad de disolución) se determinan empleando la misma metodología que cuando se caracterizan inicialmente. En el caso del peso y la disgregación de los comprimidos sólo se calculan el valor medio y su desviación estándar (31).

Para realizar la caracterización química se emplea el mismo método analítico que con los comprimidos recientemente preparados.

Según los resultados obtenidos en la validación del método analítico, se determina de forma individualizada el contenido en principio activo de al menos 4 comprimidos.

Se introduce una modificación en la preparación de las muestras analíticas para la cuantificación de Amonafide.2HCl en los comprimidos A-I y A-II. Al extraer el principio activo de estos comprimidos, los excipientes forman un precipitado cuyo aspecto cambia con el almacenamiento. Para garantizar que este precipitado no retiene principio activo, se mantienen estas muestras en agitación hasta que en dos lecturas consecutivas del contenido en principio activo del sobrenadante se obtienen valores iguales.

5.2.1.3. TRATAMIENTO DE DATOS.

Se determina si ha habido modificación estadísticamente significativa de cada una de las características analizadas con el almacenamiento. En caso afirmativo se cuantifica la misma. Para ello:

1.- Se aplica el test de Kolmogorov-Smirnov sobre los datos experimentales a cada tiempo de muestreo y en cada condición de almacenamiento, para ver si las variables analizadas siguen una distribución normal o de Gauss.

2º.- Se comparan los valores obtenidos de cada variable con los correspondientes a tiempo inicial, antes del envejecimiento, mediante el test estadístico adecuado de comparación de dos medias:

- Test de Mann-Whitney, si los datos no se ajustan a una distribución normal.

- Test t-Student, si los datos tienen una distribución normal. Se considera, además, si las varianzas de ambas muestras son homogéneas o no (test F-Snedecor).

Ambos, test de Mann-Whitney y test t-Student, son de una cola para evaluar el contenido en principio activo (97) y de dos colas para las demás propiedades.

3º.- Si se detectan diferencias estadísticamente significativas se cuantifican mediante el cálculo de la relación entre los valores de estas propiedades después del almacenamiento y sus valores iniciales, expresada en porcentaje (17).

Quedan excluidos de este tratamiento los valores de friabilidad por generarse de una única determinación experimental.

5.2.3. RESULTADOS

COMPRIMIDOS CON MITONAFIDE

Con el fin de mostrar la evolución del aspecto físico de los comprimidos durante el almacenamiento se realiza la fotografía que se reproduce en la figura 11.

Los datos experimentales obtenidos en la determinación de las dimensiones, el peso, la friabilidad, la resistencia a la fractura y el tiempo de disgregación de los comprimidos están recogidos en las tablas XXXVII y XXXVIII para los comprimidos M-I y en las tablas XLV y XLVI para los comprimidos M-II.

Los datos experimentales del ensayo de velocidad de disolución están representados en las figuras 12 y 14, según se trate de los comprimidos M-I y M-II, respectivamente. Los perfiles de disolución que aparecen en estas gráficas se obtienen al ajustar los datos experimentales de porcentaje disuelto "Q(t)" frente al tiempo de disolución "t" a una ecuación exponencial del tipo:

$$Q(t) = B(1 - e^{-k't}) + B'(1 - e^{-k''t}) + C$$

en la que los parámetros B, k y C toman los valores recogidos en las tablas XL y XLVIII. A partir de estas ecuaciones se obtienen los parámetros de disolución que están plasmados en las tablas XLI y XLIX.

Por último, los resultados de la determinación cuantitativa del principio activo en los comprimidos M-I y M-II se muestran en las tablas XLIII y LI. Los cromatogramas más representativos obtenidos en este análisis se reproducen en las figuras 13 y 15 para los comprimidos M-I y M-II.

Los resultados obtenidos tras el tratamiento estadístico de todos estos datos primarios están recogidos en las tablas XXXIX, XLII y XLIV para los comprimidos M-I y en las tablas XLVII, L y LII para los comprimidos M-II.

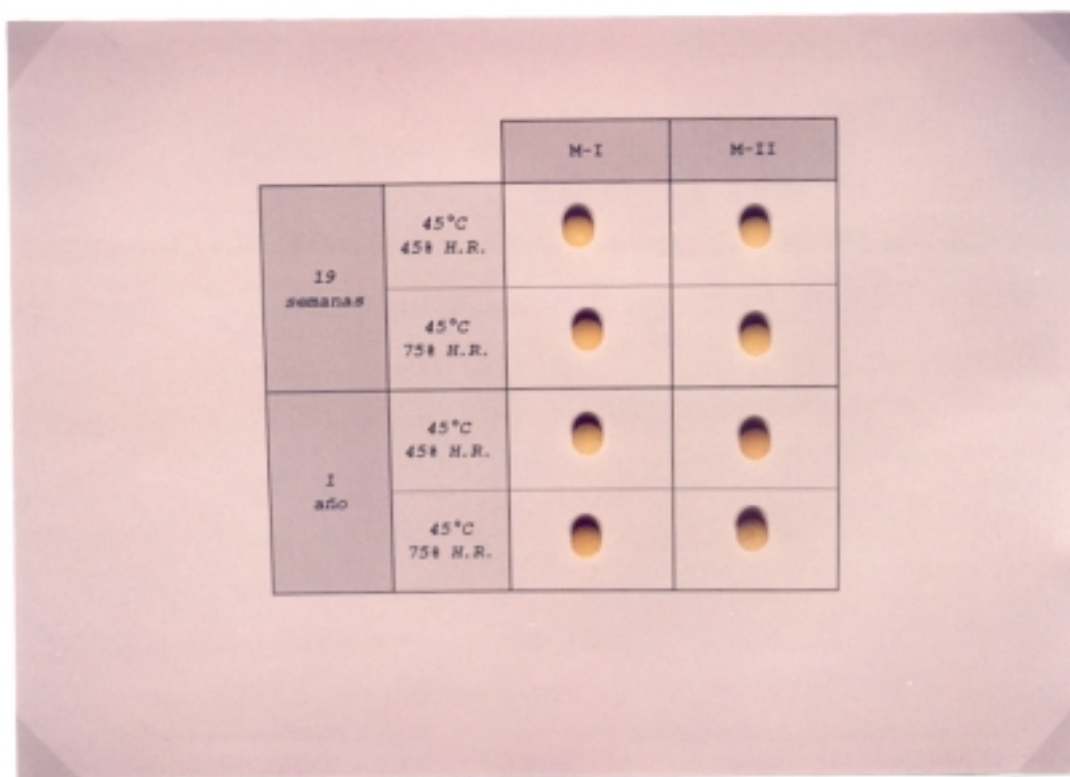


Figura 11. Aspecto físico de los comprimidos con Mitonafide

COMPRIMIDOS M-I

Estabilidad física.

No se detecta modificación estadísticamente significativa ni en las dimensiones ni en el peso de los comprimidos (tabla XXXIX).

El peso de los comprimidos M-I permanece invariable a lo largo de todo el estudio, debido a que un 96%, aproximadamente, de la composición de estos comprimidos se corresponde con sustancias que no varían su contenido en agua en el rango de las humedades relativas estudiadas.

Se detectan variaciones con las condiciones y/o el tiempo de almacenamiento en el aspecto físico, la resistencia mecánica, el tiempo de disgregación y la disolución del principio activo de los comprimidos.

La superficie de los comprimidos se vuelve rugosa y mate (figura 11). Esta alteración se acentúa con el tiempo y las condiciones de almacenamiento, de forma que los comprimidos sometidos a 45°C-75% H.R. durante 1 año presentan una superficie discontinua y con oquedades o muescas. Aparece un moteado de color granate que también se va intensificando con el tiempo, principalmente en el ambiente de mayor humedad relativa. Algunos comprimidos tras 1 año a 45°C-75% H.R. tienen un punto negro grande en la superficie, debido a crecimiento de moho. El Ludipress, excipiente mayoritario, contiene un 93,4% de lactosa que favorece el crecimiento de mohos a elevadas humedades relativas.

Los valores de friabilidad son similares en los dos tiempos de muestreo y en las dos condiciones de almacenamiento, si bien, respecto al tiempo inicial (0,26% de pérdida de peso), los valores de friabilidad de los comprimidos son menores (tabla XXVIII).

Respecto a la resistencia a la fractura (tabla XXXIX), en los comprimidos almacenados a 45°C-45% H.R. sólo se detecta variación después de un año de exposición: los comprimidos se vuelven más blandos. Por el contrario, cuando se almacenan a 45°C-75% H.R. la resistencia a

la fractura de los comprimidos es mayor y sigue aumentando con el tiempo de almacenamiento.

La resistencia a la fractura es menor al año de almacenamiento a 45°C-45% H.R. probablemente debido a que estos comprimidos, aunque en pequeña proporción, contienen sustancias higroscópicas, como el PVP K30, que adsorben agua incluso bajo humedades relativas ambientales del 45%.

El tiempo de disgregación aumenta mucho al aumentar la humedad relativa ambiental, pero no se modifica con el tiempo de almacenamiento (tabla XXXIX).

La modificación de la disgregación con la humedad relativa ambiental es normal si se tiene en cuenta, por un lado, el endurecimiento de estos comprimidos a elevadas humedades relativas, y, por otro lado, que esta humedad merma la capacidad disgregante del Explotab y del Kollidon CL (componente del Ludipress). El primero presenta un comportamiento higroscópico cuando la humedad relativa ambiental es mayor al 70% y el segundo un carácter hidrofílico.

La velocidad de disolución sólo se modifica, disminuyendo, cuando los comprimidos se almacenan a elevada humedad relativa ambiental (tabla XLII). Este enlentecimiento es más patente en los valores de t_{70} y ED^{60} , y no se intensifica con el tiempo, de forma que los perfiles de disolución para los dos tiempos de muestreo están casi superpuestos (figura 12). Al enlentecimiento del proceso de disolución, hay que sumar la aparición de un periodo de latencia de 1'57" a las 19 semanas y de 2'37" al año de exposición.

A pesar de la aparente discordancia entre las variaciones producidas en la disgregación y en la disolución, se mantiene la tesis de que en comprimidos con principios activos poco hidrosolubles, como el Mitonafide, un aumento del tiempo de disgregación supone, casi siempre, una disminución de la velocidad de disolución del principio activo (127). En efecto, nótese que aunque la variación en el tiempo de disgregación en el ambiente con un 45% H.R. es del 35,32%, en valor

absoluto supone un paso de 2,01 a 2,72 minutos, lo cual no tiene apenas significación respecto a la duración del proceso de disolución: no se observa ninguna variación en los perfiles de disolución respecto al perfil obtenido a tiempo inicial. Por otro lado, en el ambiente con un 75% H.R., el aumento del tiempo de disgregación es del 495,27%, pero en valor absoluto supone un paso de 2,01 a 11,97 minutos, lo que hace que sólo se detecte un ligero enlentecimiento del proceso de disolución: en este caso tras un periodo de latencia, debido al aumento del tiempo de disgregación, se define una curva propia de la disolución del principio activo (128).

Estabilidad química.

Como se desprende de los datos recogidos en la tabla XLIV y del análisis de los cromatogramas, obtenidos en la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-I tras 1 año de almacenamiento (figura 13), no se detecta degradación del Mitonafide en ninguna de las condiciones de almacenamiento estudiadas.

Tabla XXXVII: Dimensiones de los comprimidos X-I: datos experimentales.

	n	45°C-45% H.R.			45°C-75% H.R.		
		a (cm)	b (cm)	c (cm)	a (cm)	b (cm)	c (cm)
I p a n a s	1	0,705	0,460	0,200	0,705	0,470	0,210
	2	0,705	0,470	0,205	0,705	0,470	0,205
	3	0,705	0,475	0,210	0,705	0,460	0,200
	4	0,705	0,470	0,205	0,705	0,465	0,205
	5	0,705	0,470	0,205	0,705	0,470	0,210
I a ñ o	1	0,705	0,470	0,210	0,705	0,465	0,205
	2	0,705	0,470	0,205	0,705	0,470	0,210
	3	0,710	0,465	0,205	0,705	0,465	0,205
	4	0,705	0,475	0,210	0,705	0,465	0,205
	5	0,705	0,470	0,205	0,705	0,475	0,210

Tabla XXXVIII: Peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación de los comprimidos M-I: datos experimentales.

n	19 semanas		1 año	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
n	PESO (mg)			
1	172,7	172,8	170,1	174,7
2	174,8	171,9	170,2	172,3
3	170,8	173,8	170,5	170,9
4	174,6	171,9	171,3	172,2
5	170,2	171,2	173,5	172,8
6	172,2	173,0	171,7	173,5
7	171,8	171,5	174,7	175,6
8	173,3	172,5	171,9	172,9
9	171,7	172,9	172,4	172,2
10	171,4	173,4	172,5	172,8
11	171,9	171,7	172,6	171,5
12	171,8	170,1	174,6	172,6
13	171,6	171,7	173,1	172,4
14	172,2	172,5	172,9	175,1
15	170,9	172,8	172,3	174,1
16	171,6	172,0	172,0	172,7
17	171,3	172,3	173,1	172,7
18	172,5	174,6	171,9	170,4
19	173,7	173,0	174,3	171,9
20	173,9	174,5	172,6	171,6
n	FRIABILIDAD			
1	0,17%	0,19%	0,18%	0,20%
n	RESISTENCIA A LA FRACTURA (kg Erweka)			
1	5,00	7,25	4,25	9,75
2	4,75	7,75	4,50	9,25
3	5,25	7,00	4,25	8,75
4	5,50	7,25	4,75	8,50
5	5,00	7,25	4,00	9,00
n	TIEMPO DE DISGREGACION			
1	2'13"	10'43"	2'34"	10'43"
2	2'27"	11'18"	2'38"	10'49"
3	2'35"	12'02"	2'42"	11'23"
4	2'42"	12'20"	2'47"	12'05"
5	2'58"	12'45"	2'50"	12'54"
6	3'16"	13'15"	2'57"	13'19"

Tabla XXXIX: Estabilidad física de los comprimidos M-I: resultados del tratamiento estadístico de los datos de dimensiones, peso, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t ⁻ Student	% respecto al inicial
DIMENSIONES: a (cm)	t ⁰	5	0,705	0,000			
45°C-45%HR	t ¹	5	0,705	0,000	-	-	100,00
	t ²	5	0,706	0,002	-	0,95	
45°C-75%HR	t ¹	5	0,705	0,000	-	-	100,00
	t ²	5	0,705	0,000	-	-	
DIMENSIONES: b (cm)	t ⁰	5	0,467	0,003			
45°C-45%HR	t ¹	5	0,469	0,005	4,00	0,73	100,00
	t ²	5	0,470	0,003	1,67	1,50	
45°C-75%HR	t ¹	5	0,467	0,004	-	-	100,00
	t ²	5	0,468	0,004	-	-	
DIMENSIONES: c (cm)	t ⁰	5	0,204	0,002			
45°C-45%HR	t ¹	5	0,205	0,003	-	-	100,00
	t ²	5	0,207	0,003	1,50	1,90	
45°C-75%HR	t ¹	5	0,206	0,004	3,50	0,94	100,00
	t ²	5	0,207	0,003	1,50	1,90	
PESO (mg)	t ⁰	20	172,35	1,03			
45°C-45%HR	t ¹	20	172,24	1,25	1,48	0,28	100,00
	t ²	20	172,41	1,30	1,62	0,17	
45°C-75%HR	t ¹	20	172,50	1,09	1,12	0,48	100,00
	t ²	20	172,74	1,32	1,67	1,07	
R. FRACTURA (Kg)	t ⁰	5	5,45	0,45			
45°C-45%HR	t ¹	5	5,10	0,28	2,46	1,48	100,00
	t ²	5	4,35	0,28	2,46	4,64**	79,82
45°C-75%HR	t ¹	5	7,30	0,27	2,67	7,89**	133,94
	t ²	5	9,05	0,48	1,16	12,26**	166,05
T. DISGREGACION (min)	t ⁰	6	2,01	0,50			
45°C-45%HR	t ¹	6	2,70	0,37	1,79	2,69*	135,32
	t ²	6	2,74	0,14	13,08**	3,45*	
45°C-75%HR	t ¹	6	12,06	0,93	3,44	23,27**	595,27
	t ²	6	11,87	1,06	4,66	20,22**	

t⁰ = tiempo inicial t¹ = 19 semanas t² = 1 año
 * 0,05 > P > 0,01 ** P < 0,01

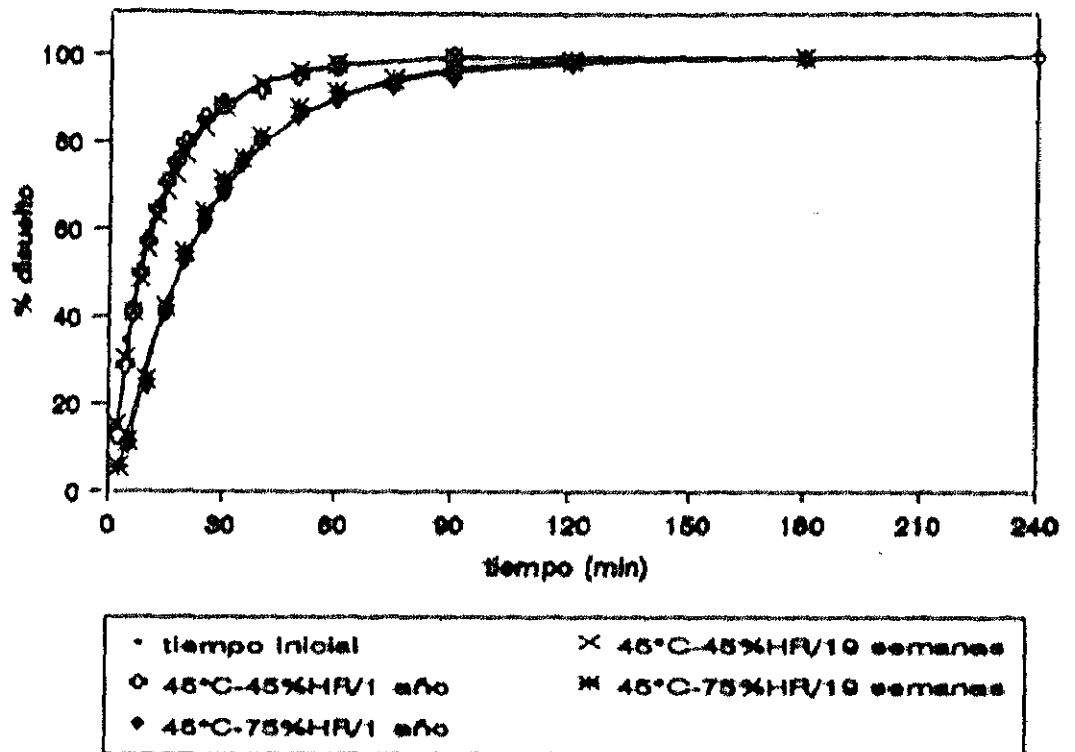


Figura 12. Perfiles de disolución de los comprimidos M-I.

Tabla XL: Parámetros de las ecuaciones matemáticas que definen los perfiles de disolución del Mitonafide en los comprimidos M-I.

$$Q(t) = B'(1 - e^{-k't}) + B''(1 - e^{-k''t}) + C$$

		B'	σ	k'	σ	B''	σ	k''	σ	C	σ
		(%)	(%)	(min ⁻¹)	(min ⁻¹)	(%)	(%)	(min ⁻¹)	(min ⁻¹)	(%)	(%)
45°C-45%HR	t ¹	74,12	4,60	0,061	0,003	26,30	3,84	0,26	0,07	0,00	-
	t ²	38,81	7,12	0,042	0,004	61,02	6,36	0,13	0,01	-5,44	1,74
45°C-75%HR	t ¹	105,10	0,43	0,041	0,001	-	-	-	-	-5,02	0,41
	t ²	100,40	16,77	0,047	0,006	-	-	-	-	-11,66	1,32

t¹ = 10 semanas; t² = 1 año

Tabla XLI: Parámetros característicos del proceso de disolución del Mitonafide incluida en los comprimidos M-I.

		19 SEMANAS		1-450	
		45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
n	t ₀ (min)				
1	0	1,74	0,86	2,24	
2	0	2,26	0,00	1,68	
3	0	2,64	0,00	2,63	
4	0	1,76	0,65	4,01	
5	0	1,27	0,68	2,51	
6	0	2,01	0,51	2,63	
n	t ₇₀ (min)				
1	15,32	34,99	13,89	35,56	
2	16,06	29,66	13,94	31,69	
3	12,20	33,40	13,94	10,10	
4	17,17	24,43	15,50	30,29	
5	15,20	26,97	15,67	28,27	
6	15,19	29,55	14,76	30,91	
n	t ₁₀₀ (min)				
1	120	210	125	212	
2	120	190	115	200	
3	120	210	130	190	
4	120	180	115	180	
5	120	200	145	180	
6	110	195	110	200	
n	Q ₆₀ (%)				
1	99,13	87,50	98,13	88,77	
2	98,95	92,01	99,53	90,18	
3	98,81	88,67	99,01	91,87	
4	95,18	95,50	99,40	92,76	
5	99,32	94,20	94,48	93,65	
6	98,15	92,03	99,77	92,17	
n	E.D. 60' (%)				
1	78,17	56,58	79,20	56,05	
2	77,38	61,33	79,43	59,58	
3	74,83	57,42	79,57	60,53	
4	75,43	67,17	76,58	59,48	
5	78,38	64,20	76,37	62,52	
6	78,85	61,60	77,85	59,43	

Tabla XLII: Estabilidad física de los comprimidos M-I: resultados del tratamiento estadístico de los parámetros de disolución del Mitonafide.

		n	\bar{x}	s	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
t0 (min)	t ⁰	6	0,00	0,00	-	-	-
45°C-45HR	t ¹	6	0,00	0,00	-	-	-
	t ²	6	0,40	0,40	-	1,01*	-
45°C-75HR	t ¹	6	1,90	0,41	-	9,08**	-
	t ²	6	2,80	0,41	-	12,18**	-
t70 (min)	t ⁰	6	14,5	0,41	-	-	-
45°C-45HR	t ¹	6	15,10	1,88	28,07**	1,01*	100,00
	t ²	6	14,80	1,90	1,09*	0,34	-
45°C-75HR	t ¹	6	19,80	1,40	162**	9,88**	210,39
	t ²	6	31,14	1,40	81,28**	18,93**	-
t100 (min)	t ⁰	6	118,33	1,38	-	-	-
45°C-45HR	t ¹	6	118,11	4,78	2,50	0,00	100,00
	t ²	6	121,33	1,38	28,08**	0,91	-
45°C-75HR	t ¹	6	191,50	1,38	20,67**	16,15**	165,29
	t ²	6	193,61	1,38	24,10*	14,28**	-
Q60' (%)	t ⁰	6	99,38	1,11	-	-	-
45°C-45HR	t ¹	6	98,16	1,11	100,81**	1,15	100,00
	t ²	6	99,38	1,11	108,48**	1,21	-
45°C-75HR	t ¹	6	91,80	1,11	100,08**	8,121**	92,19
	t ²	6	91,11	1,11	201,07**	31,68**	-
E.D. 60' (%)	t ⁰	6	18,00	0,40	-	-	-
45°C-45HR	t ¹	6	17,50	0,40	3,07*	1,31	100,00
	t ²	6	18,11	0,40	3,07*	1,01	-
45°C-75HR	t ¹	6	13,10	0,40	68,11**	10,51**	76,76
	t ²	6	10,50	0,40	10,50**	21,83**	-

t⁰ = tiempo inicial t¹ = 19 semanas t² = 1 año

* 0,05 < p < 0,01

** p < 0,01

Tabla XLIII: Resultados de la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-I.

n	19 semanas		1 año	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
	CONTENIDO EN PRINCIPIO ACTIVO (mg)			
1	102,20	103,15	100,74	101,14
2	102,82	103,46	100,97	100,86
3	102,49	102,78	103,50	100,06
4	102,98	102,72	101,14	100,80

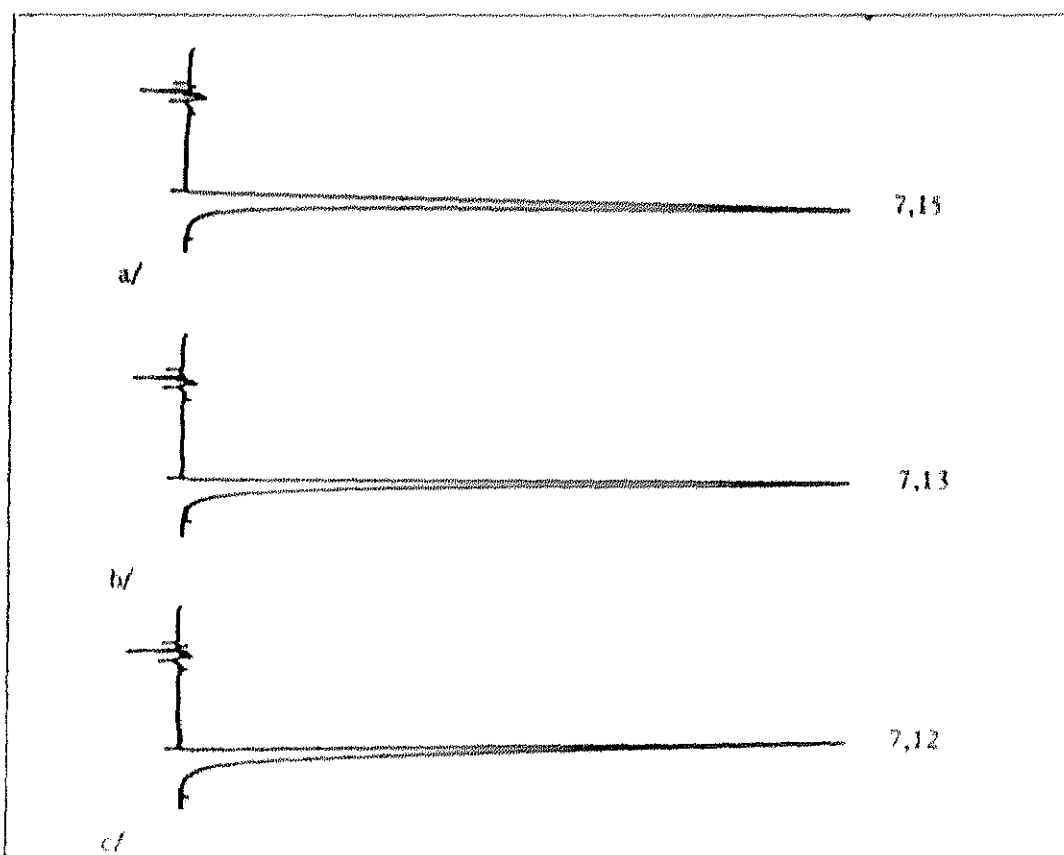


Figura 13. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-I almacenados durante 1 año:

- a/ Patrón de Mitonafide.
- b/ 45°C-45% H.R.
- c/ 45°C-75% H.R.

Tabla XLIV: Estabilidad química de los comprimidos M-1: resultados del tratamiento estadístico de los datos obtenidos en la cuantificación de Mitonafide.

		n	\bar{x} (mg)	s (mg)	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
	t ⁰	20	101,50	1,95			
45°C-45HR	t ¹	4	102,62	0,35	-	-	100,00
	t ²	4	101,58	1,29	-	-	
45°C-75HR	t ¹	4	103,03	0,34	-	-	100,00
	t ²	4	100,72	0,46	17,90*	1,59	

t⁰ = tiempo inicial

t¹ = 19 semanas

t² = 1 año

* 0,05 > P > 0,01

COMPRINIDOS M-II

Estabilidad física.

No se detecta modificación estadísticamente significativa ni en las dimensiones ni en el peso de los comprimidos, en ninguno de los dos ambientes de humedad relativa estudiados (tabla XLVII).

Esta evolución puede ser debida a que la mayoría de los componentes de la formulación de los comprimidos M-II no varían su contenido en agua bajo estas condiciones de almacenamiento.

Se detectan variaciones, con las condiciones y/o el tiempo de almacenamiento, en el aspecto físico, la resistencia mecánica, el tiempo de disgregación y velocidad de disolución del principio activo de los comprimidos.

Los comprimidos se oscurecen, tanto más cuanto mayor es la humedad relativa ambiental y el tiempo de exposición. Su superficie se vuelve mate y en ella va apareciendo un moteado grisáceo (figura 11).

La resistencia a la fractura aumenta bajo una humedad relativa ambiental del 45%, siendo mayor conforme se prolonga el tiempo de almacenamiento (tabla XLVII). El aumento de la resistencia mecánica también se manifiesta en los valores de friabilidad (tabla XLVI) respecto al valor inicial (0,22%).

El tiempo de disgregación aumenta de forma similar en ambas condiciones de almacenamiento (tabla XLVII).

La explicación de la evolución de la resistencia a la fractura y de la disgregación con el tiempo de almacenamiento y con la humedad relativa ambiental puede recaer en la formulación del comprimido. En un estudio de la influencia de la humedad relativa ambiental sobre la resistencia a la fractura y la disgregación de comprimidos con una composición similar a los M-II (α -lactosa monohidrato como diluyente y almidón de arroz como disgregante) se observó que a bajas humedades

relativas ambientales la evolución de ambas características era coherente y que no lo era a elevadas humedades relativas ambientales (17).

En cuanto a la velocidad de disolución, ésta aumenta cuando las condiciones ambientales son 45°C-45% H.R. y con el tiempo de almacenamiento (figura 14). Esta aceleración, se manifiesta, con distinta intensidad, en todos los parámetros estudiados que definen el proceso. El periodo de latencia no se modifica respecto al de tiempo inicial (tabla I).

Cuando los comprimidos se almacenan a 45°C-75% H.R., se producen variaciones en la velocidad de disolución del Mitonafide en sentido opuesto según la fase del proceso que se considere: se entorpece en la fase inicial (valor de t_{70} incrementado respecto al de tiempo inicial) y se acelera en la fase terminal del proceso (mayor valor de $Q_{60'}$ y menor valor de t_{100} respecto a los de tiempo inicial). El valor de $ED^{60'}$ no se modifica.

Si se comparan los resultados obtenidos en los dos tiempos de muestreo se observa, después de un año de almacenamiento, un aumento del periodo de latencia y una aceleración de la disolución.

Se ha demostrado en comprimidos con un elevado porcentaje de sustancias no solubles, como los M-II, con Mitonafide en un 55,05%, que la naturaleza hidrofílica de los disgregantes condiciona la penetración del medio de disolución. En este sentido, a bajas humedades relativas el almidón de maíz, componente de estos comprimidos, se hincha disminuyendo la porosidad del comprimido y, con el paso del tiempo, este hinchamiento crea unas presiones en el interior del comprimido que facilitarán la penetración del líquido de ataque; esto justificaría la aceleración de la disolución del Mitonafide después de almacenar los comprimidos M-II durante un año, respecto a su disolución después de 19 semanas. Cuando la humedad relativa ambiental es elevada, la penetración del medio de disolución es impedida porque el disgregante presente en la matriz forma, durante el almacenamiento, un gel con el agua ambiental

(21,22); esto explicaría el aumento en el periodo de latencia después de un año de almacenamiento a 45°C-75% H.R.

Se podría pensar que esto también puede influir en la disgregación, pero no es así. Carstensen ha recogido una serie de artículos que demuestran la existencia de una correlación directa entre la modificación en la porosidad y la velocidad de disolución de los comprimidos, aún cuando no se observe una relación aparente o patente entre disgregación y disolución de los mismos (43).

Estabilidad química.

Sólo al año de almacenamiento se detecta degradación del principio activo, siendo de igual intensidad para ambas condiciones de humedad relativa ambiental estudiadas. Este hecho queda patente tanto en los datos recogidos en la tabla LII como en los cromatogramas de la figura 15.

Tabla XLV: Dimensiones de los comprimidos M-II: datos experimentales.

	n	45°C-45% H.R.			45°C-75% H.R.		
		a (cm)	b (cm)	c (cm)	a (cm)	b (cm)	c (cm)
M I I	1	0,710	0,470	0,220	0,705	0,470	0,215
	2	0,705	0,470	0,225	0,705	0,470	0,225
	3	0,705	0,470	0,220	0,705	0,465	0,225
	4	0,705	0,470	0,220	0,705	0,475	0,215
	5	0,705	0,475	0,225	0,705	0,475	0,225
I I I	1	0,705	0,475	0,225	0,705	0,470	0,220
	2	0,705	0,470	0,225	0,705	0,475	0,225
	3	0,705	0,475	0,220	0,710	0,475	0,225
	4	0,705	0,475	0,225	0,710	0,475	0,220
	5	0,705	0,470	0,225	0,705	0,475	0,225

Tabla XLVI: Peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación de los comprimidos M-II: datos experimentales.

n	19 semanas		1 año	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
n	PESO (mg)			
1	103,8	106,2	103,4	107,3
2	105,8	105,6	102,2	106,4
3	104,7	107,3	108,0	102,1
4	106,4	104,7	104,9	103,1
5	102,9	105,7	102,2	104,4
6	103,6	104,5	104,6	106,6
7	106,4	102,3	100,1	103,7
8	106,1	102,9	107,3	107,4
9	103,0	104,5	105,5	107,9
10	102,1	100,5	107,1	102,0
11	107,9	106,5	107,0	101,7
12	102,0	104,9	102,0	104,7
13	100,1	104,9	102,1	103,0
14	104,6	104,9	105,6	104,0
15	104,1	106,0	107,5	106,0
16	105,2	100,2	103,5	106,0
17	103,0	103,2	104,4	100,5
18	104,9	105,6	105,9	105,0
19	105,5	104,5	107,9	103,5
20	103,9	104,7	101,7	105,5
n	FRIABILIDAD			
1	0,09%	0,10%	0,12%	0,20%
n	RESISTENCIA A LA FRACTURA (kg Erweka)			
1	7,50	5,50	7,50	4,75
2	6,75	5,50	8,00	5,00
3	6,75	4,50	7,50	5,00
4	7,00	4,50	7,25	4,75
5	6,75	5,00	7,75	5,25
n	TIEMPO DE DISGREGACION			
1	12'14"	12'12"	13'43"	13'53"
2	13'37"	13'14"	14'21"	14'12"
3	13'42"	13'37"	14'45"	14'40"
4	14'04"	14'32"	14'45"	15'14"
5	14'11"	14'48"	15'25"	15'36"
6	14'33"	15'06"	15'50"	15'47"

Tabla XLVII: Estabilidad física de los comprimidos M-II: resultados del tratamiento estadístico de los datos de dimensiones, peso, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación.

		n	\bar{X}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
DIMENSIONES: a (cm)	t ⁰	5	0,305	0,003			
	t ¹	5	0,306	0,003			100,00
45°C-45HR	t ²	5	0,305	0,003			
	t ¹	5	0,305	0,003			100,00
45°C-75HR	t ²	5	0,311	0,004		1,58	
	t ⁰	5	0,410	0,003			
DIMENSIONES: b (cm)	t ¹	5	0,411	0,003			100,00
	t ²	5	0,413	0,004	4,00	2,92	
45°C-75HR	t ¹	5	0,413	0,004			100,00
	t ²	5	0,413	0,003	5,00	1,63	
DIMENSIONES: c (cm)	t ⁰	5	0,272	0,004			
	t ¹	5	0,272	0,004			100,00
45°C-45HR	t ²	5	0,274	0,003	4,00	1,59	
	t ¹	5	0,272	0,003			100,00
45°C-75HR	t ²	5	0,274	0,003			
	t ⁰	20	184,56	1,23			
PESO (mg)	t ¹	20	184,58	1,19	2,01	2,17	100,00
	t ²	20	184,74	2,41	1,18**	1,22	
45°C-75HR	t ¹	20	184,88	1,74	1,91	2,61	100,00
	t ²	20	185,16	1,25	3,12**	1,17	
R. FRACTURA (Kg)	t ⁰	5	5,15	0,24			
	t ¹	5	5,15	0,24	1,21	2,3**	114,95
45°C-45HR	t ²	5	5,16	0,24	1,20	1,20**	142,57
	t ¹	5	5,15	0,24	0,79	1,78	100,00
45°C-75HR	t ²	5	4,75	0,23	1,95	1,25	
	t ⁰	6	8,82	1,14			
T. DISGREGACION (min)	t ¹	6	14,72	2,87	1,00	2,41**	153,81
	t ²	6	14,83	2,75	1,00	1,44**	166,26
45°C-75HR	t ¹	6	14,91	2,71	1,00	1,12**	161,66
	t ²	6	14,93	2,71	1,00	1,41**	

t⁰ = tiempo inicial t¹ = 19 semanas t² = 1 año

** p < 0,01

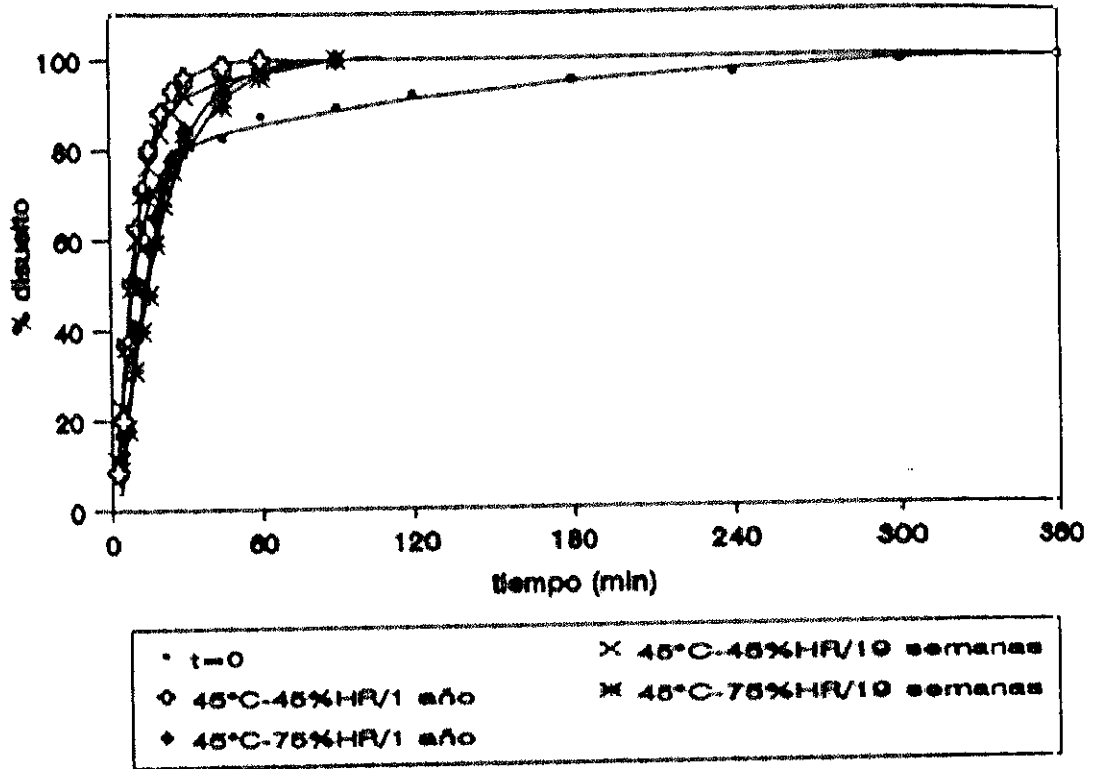


Figura 14. Perfiles de disolución de los comprimidos M-II.

Tabla XLVIII: Parámetros de las ecuaciones matemáticas que definen los perfiles de disolución del Mitonafide en los comprimidos M-II.

$$Q(\%) = B'(1 - e^{-k't}) + B''(1 - e^{-k''t}) + C$$

		B'	σ	k'	σ	B''	σ	k''	σ	C	σ
		(%)	(%)	(min ⁻¹)	(min ⁻¹)	(%)	(%)	(min ⁻¹)	(min ⁻¹)	(%)	(%)
45°C-45%HR	t ¹	117,50	4,12	0,097	0,001	-	-	-	-	-15,30	1,20
	t ²	116,20	0,38	0,112	0,001	-	-	-	-	-16,07	0,89
45°C-75%HR	t ¹	114,80	2,46	0,056	0,001	-	-	-	-	-13,82	1,51
	t ²	114,85	3,30	0,068	0,007	-	-	-	-	-14,20	3,11

t¹ = 10 semanas

t² = 1 año

Tabla XLIX: Parámetros característicos del proceso de disolución del Mitonafide incluido en los comprimidos M-II.

n	19 semanas		1 año	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
n	t ₀ (min)			
1	0,95	2,01	1,38	1,93
2	1,23	1,58	1,52	2,22
3	0,93	1,99	1,68	2,45
4	1,65	1,44	1,65	1,76
5	1,27	1,79	1,63	2,02
6	1,17	1,72	1,44	2,12
n	t ₇₀ (min)			
1	12,58	22,94	11,58	18,78
2	12,83	24,09	12,20	20,57
3	12,74	24,13	12,77	18,26
4	14,06	23,49	12,36	22,27
5	13,36	23,61	12,48	21,58
6	13,32	23,83	12,46	19,51
n	t ₁₀₀ (min)			
1	90	160	70	110
2	100	170	75	120
3	100	160	90	110
4	90	160	80	125
5	100	150	95	125
6	100	150	80	110
n	Q _{60'} (%)			
1	99,96	95,98	99,89	98,68
2	99,63	95,24	99,85	97,49
3	99,78	95,90	99,81	98,64
4	99,84	95,58	99,87	96,93
5	99,07	95,53	99,82	97,13
6	99,30	95,59	99,83	98,39
n	E.D. 60' (%)			
1	79,97	69,90	83,45	72,70
2	81,00	68,82	82,53	72,45
3	80,55	67,77	81,75	75,42
4	80,95	69,17	81,22	69,28
5	80,63	69,00	82,13	70,48
6	80,15	68,47	82,03	72,33

Tabla L: Estabilidad física de los comprimidos M-II: resultados del tratamiento estadístico de los parámetros de disolución del Mitonafide.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
t0 (min)	t ⁰	6	1,22	0,10			
45°C-45HR	t ¹	6	1,20	0,26	7,22*	0,67	100,00
	t ²	6	1,58	0,12	33,08**	1,13	
45°C-75HR	t ¹	6	1,26	0,22	9,85*	1,77	100,00
	t ²	6	2,08	0,24	8,68*	2,84*	170,49
t70 (min)	t ⁰	6	16,03	0,24			
45°C-45HR	t ¹	6	13,15	0,55	1,26	6,24**	82,03
	t ²	6	12,31	0,40	3,02*	8,54**	76,79
45°C-75HR	t ¹	6	23,68	0,44	4,37	17,32**	147,72
	t ²	6	20,16	1,59	2,58	5,42**	125,76
t100 (min)	t ⁰	6	345,77	30,07			
45°C-45HR	t ¹	6	96,67	5,16	33,91**	20,00**	27,96
	t ²	6	81,67	4,11	10,44*	20,55**	23,62
45°C-75HR	t ¹	6	158,33	7,93	15,96**	14,81**	45,79
	t ²	6	116,67	7,53	15,96**	18,10**	33,74
Q 60' (%)	t ⁰	6	85,24	1,74			
45°C-45HR	t ¹	6	89,60	0,74	25,47**	14,80**	116,99
	t ²	6	99,85	0,03	3198**	20,53**	
45°C-75HR	t ¹	6	95,64	0,27	40,01**	14,44**	112,20
	t ²	6	91,88	0,25	4,91	16,19**	114,83
E.D. 60' (%)	t ⁰	6	70,26	1,49			
45°C-45HR	t ¹	6	80,54	0,42	10,90**	18,28**	114,60
	t ²	6	80,19	0,26	1,46	17,47**	116,95
45°C-75HR	t ¹	6	68,44	0,21	4,16	2,11	100,00
	t ²	6	72,11	2,10	2,09	1,74	

t⁰ = tiempo inicial t¹ = 19 semanas t² = 1 año
 * 0,05 < P < 0,01 ** P < 0,01

Tabla LI: Resultados de la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-II.

n	19 semanas		1 año	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
	CONTENIDO EN PRINCIPIO ACTIVO (mg)			
1	102,78	103,82	100,05	101,39
2	100,15	99,65	101,41	100,01
3	103,19	101,29	101,72	99,23
4	99,61	100,23	99,72	99,12

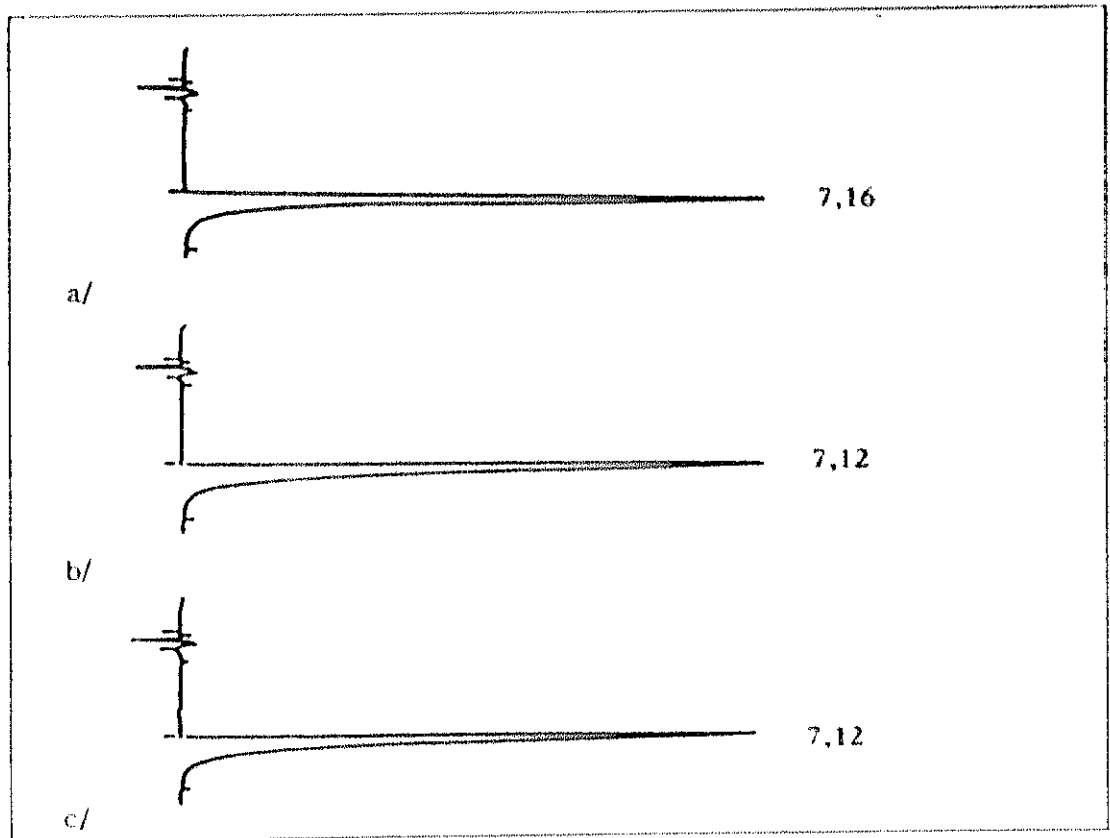


Figura 15. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-II almacenados durante 1 año:

a/ Patrón de Mitonafide.

b/ 45°C-45% H.R.

c/ 45°C-75% H.R.

Tabla LII: Estabilidad química de los comprimidos M-II: resultados del tratamiento estadístico de los datos obtenidos en la cuantificación de Mitonafide.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
	t ⁰	20	101,05	1,60			
45°C-45HR	t ¹	4	101,43	1,01	1,29	1,81	100,00
	t ²	4	100,73	0,99	2,62	2,77*	97,75
45°C-75HR	t ¹	4	101,25	1,04	1,33	2,01	100,00
	t ²	4	100,14	1,14	1,98	3,44**	97,18

t⁰= tiempo inicial t¹= 19 semanas t²= 1 año

* 0,05 > P > 0,01

** P > 0,01

COMPRESIDOS CON AMONAFIDE, 2HC1

El aspecto físico que presentan los comprimidos en las distintas condiciones de almacenamiento estudiadas está plasmado en la fotografía que se reproduce en la figura 16.

Los datos experimentales obtenidos al determinar las dimensiones, el peso, la friabilidad, la resistencia a la fractura y el tiempo de disgregación de los comprimidos se recogen en las tablas LIII y LIV para los comprimidos A-I, en las tablas LXI y LXII para los A-II y en las tablas LXIX y LXX para los A-III.

Los datos experimentales del ensayo de velocidad de disolución están representados en las figuras 17, 19 y 21, para los comprimidos A-I, A-II y A-III, respectivamente. Los perfiles de disolución que aparecen en estas gráficas se obtienen al ajustar los datos experimentales de porcentaje disuelto "Q(t)" frente al tiempo de disolución "t" a una ecuación exponencial del tipo:

$$Q(t) = B'(1-e^{-k't}) + B''(1-e^{-k''t}) + C$$

en la que los parámetros B, k y C toman los valores recogidos en las tablas LVI, LXIV y LXXII. A partir de estas ecuaciones se calculan los parámetros de disolución que figuran en las tablas LVII, LXV y LXXIII.

Por último, los resultados de la determinación cuantitativa del principio activo en los comprimidos A-I, A-II y A-III se muestran en las tablas LIX, LXVII y LXXV, y en las figuras 18, 20 y 22 se reproducen los cromatogramas más representativos obtenidos en este análisis.

Los resultados obtenidos tras el tratamiento estadístico de estos datos primarios están recogidos en las tablas LV, LVIII y LX para los comprimidos A-I, en las tablas LXIII, LXVI, LXVIII para los A-II y en las tablas LXXI, LXXIV y LXXVI para los A-III.

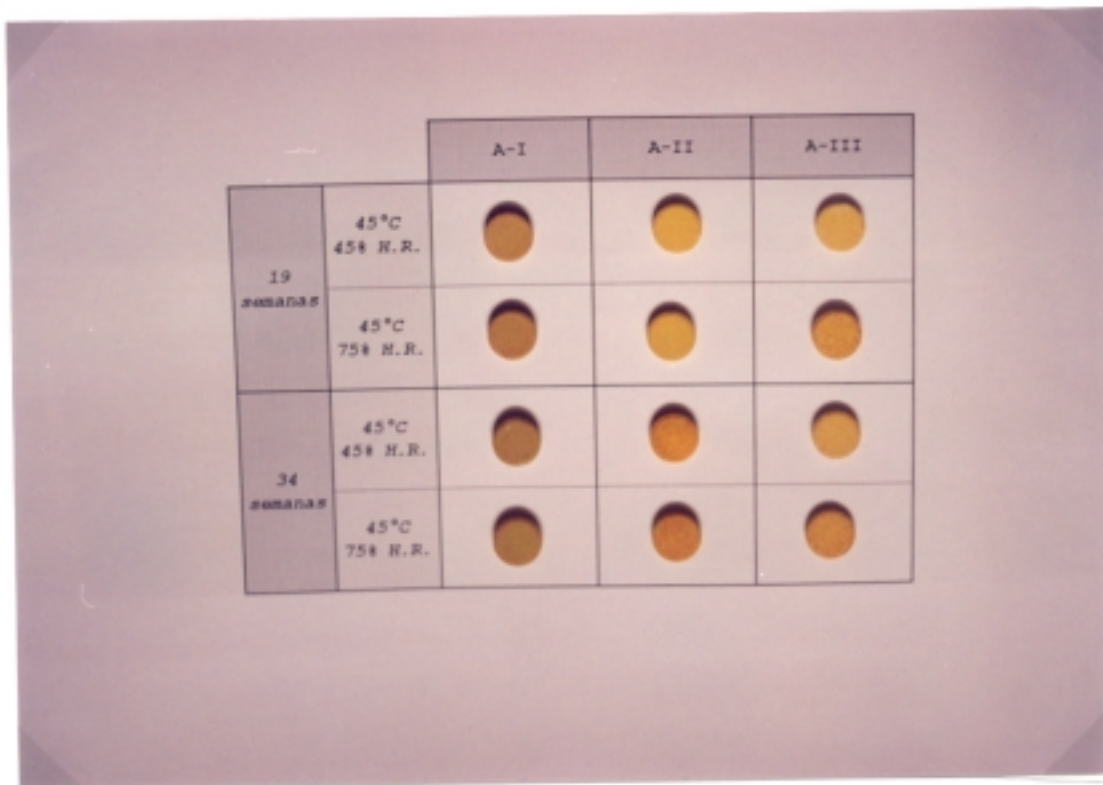


Figura 16. Aspecto físico de los comprimidos con Amonafide.2HCl.

COMPRIMIDOS A-I

Estabilidad física.

No se detecta modificación estadísticamente significativa en las dimensiones de los comprimidos (tabla LV).

Se detectan variaciones con las condiciones y/o el tiempo de almacenamiento en el aspecto físico, el peso, la resistencia mecánica, el tiempo de disgregación y la velocidad de disolución del principio activo de los comprimidos.

Las características físicas de los comprimidos A-I varían fundamentalmente cuando se almacenan en ambientes con elevada humedad relativa (75%). Esta variación está en concordancia con el posible aumento en el contenido en humedad de los comprimidos. En un ambiente de humedad relativa del 45% presentan un comportamiento higroscópico el Avicel y la PVP, que representan el 36,7% del peso del comprimido. Sin embargo, con una humedad relativa ambiental del 75%, esta característica es propia también del Amonafide.2HCl. El conjunto de las tres sustancias representa el 99,2% del peso del comprimido.

Así, los comprimidos A-I adquieren un color verde parduzco, no homogéneo, con el almacenamiento, más oscuro cuando las condiciones de almacenamiento son más drásticas (figura 16).

Se puede considerar que el peso de los comprimidos (tabla LV) mantenidos a 45°C-45% H.R. no se modifica con el almacenamiento. La variación observada a las 34 semanas de exposición, un 0,8% respecto al valor inicial, carece de significación práctica. Cuando se almacenan a 45°C-75% H.R., el peso aumenta un 1,05% respecto al valor inicial.

La resistencia a la fractura sólo se modifica en ambientes de elevada humedad relativa: como cabría esperar, se observa una disminución que se acentúa con el paso del tiempo (tabla LV), ya que,

a elevadas humedades relativas ambientales (alrededor del 75%) los comprimidos con Avicel se suelen volver más frágiles (32). Esta disminución de la resistencia mecánica de los comprimidos, observada a partir de los datos de resistencia a la fractura, no se manifiesta en los datos de friabilidad (tabla LIV). En efecto, en ambos ambientes, de baja y de alta humedad relativa, la friabilidad disminuye, quizás porque la PVP presenta un comportamiento delicuescente (24), que supone una cementación del comprimido.

El tiempo de disgregación aumenta con el tiempo de almacenamiento en las dos condiciones estudiadas (tabla LV), siendo más acusada esta evolución cuando los comprimidos se almacenan a 45°C-75% H.R., debido, probablemente, a que el propio comportamiento higroscópico del Avicel merma su capacidad disgregante.

La velocidad de disolución disminuye con el almacenamiento, pero no hay aparición de tiempo de latencia. Esta disminución es más acusada en el ambiente de elevada humedad relativa (tabla LVIII).

El enlentecimiento de la disolución del principio activo está en concordancia con el incremento en el tiempo de disgregación.

Cuando los comprimidos se almacenan a 45°C-45% H.R. la disminución de la velocidad de disolución se manifiesta en todos los parámetros usados para caracterizar al proceso, pero especialmente en el t_{70} , y se acentúa con el tiempo de almacenamiento, de manera que existe un paralelismo entre el aumento del tiempo de disgregación y la disminución de la velocidad de disolución con el tiempo de exposición. Los perfiles de disolución también son distintos en los dos tiempos de muestreo (figura 17): los comprimidos almacenados durante 19 semanas presentan un perfil con un punto de inflexión a los 9 minutos, a partir del cual la cinética viene definida por una ecuación monoexponencial. En los perfiles de los comprimidos mantenidos durante 34 semanas, este punto de inflexión existe, pero se ha suavizado, de forma que todo el perfil se puede englobar en una expresión matemática biexponencial. Estos

puntos de inflexión observados en los perfiles de disolución de los comprimidos A-I cuando se almacenan a 45°C-45% H.R. representan una cesión no homogénea del Amonafide.2HCl debido a una alteración de los comprimidos durante el almacenamiento: a las 19 semanas, la alteración del comprimido es parcial, de manera que la zona no afectada libera al principio activo a la misma velocidad que a tiempo inicial (primeros 9 minutos de ensayo) y luego se manifiesta la alteración sufrida por el comprimido, que se traduce en una disminución de la velocidad de disolución. A las 34 semanas, el punto de inflexión del perfil sigue existiendo aunque suavizado, probablemente porque la alteración sufrida por el comprimido es mayor, y las diferencias dentro del comprimido no son tan patentes.

Cuando los comprimidos se almacenan a 45°C-75% H.R. el enlentecimiento del proceso de disolución es mayor y se refleja sobre todo en el parámetro t_{100} . Esta disminución en la velocidad de disolución sólo se modifica ligeramente al incrementar el tiempo de almacenamiento, de manera que únicamente se detecta a través de los parámetros $Q_{10'}$ y $ED^{10'}$, mientras que los valores de t_{70} y de t_{100} permanecen invariables. Los perfiles de disolución a las 19 y 34 semanas de almacenamiento están prácticamente superpuestos y definidos, en ambos casos, por una ecuación monoexponencial.

Así pues, al aumentar el tiempo de almacenamiento apenas se modifica la velocidad de disolución, pero, sin embargo, el tiempo de disgregación de los comprimidos aumenta de forma drástica. Este hecho puede ser debido a que el comportamiento higroscópico del Amonafide.2HCl es tal que a las 19 semanas, en un ambiente de humedad relativa del 75%, ya ha alcanzado la humedad de equilibrio, de forma que su afinidad por el líquido de ataque en el ensayo de disolución es la misma a las 19 que a las 34 semanas y de tal magnitud que las modificaciones en el tiempo de disgregación del comprimido no afectan a su disolución. Esto es evidente en el transcurso del ensayo de disolución: los comprimidos no se disgregan, incluso a las 24 horas de ensayo, pero el principio

activo, dada su elevada hidrosolubilidad, si se disuelve.

Estabilidad química.

Sólo se detecta una degradación estadísticamente significativa del Amonafide.2HCl en ambientes con un 75% de humedad relativa, siendo más acusada a las 34 semanas de exposición (tabla LX). En los cromatogramas recogidos en la figura 18 se puede apreciar esta degradación.

En estos comprimidos A-I, se puede aplicar la hipótesis de posible descomposición de principios activos hidrosolubles, como el Amonafide.2HCl, por disolución en el agua libre captada (27). Conviene recordar que un 99,2% de su peso está constituido por sustancias higroscópicas bajo una humedad relativa del 75%.

Tabla LIII: Dimensiones de los comprimidos A-I: datos experimentales.

	n	45°C-45% H.R.		45°C-75% H.R.	
		diámetro (cm)	altura (cm)	diámetro (cm)	altura (cm)
1 9 A B C D E	1	1,105	0,380	1,105	0,385
	2	1,105	0,380	1,105	0,375
	3	1,105	0,375	1,105	0,385
	4	1,105	0,385	1,105	0,390
	5	1,105	0,390	1,105	0,380
3 4 A B C D E	1	1,105	0,390	1,105	0,380
	2	1,105	0,380	1,105	0,385
	3	1,105	0,380	1,105	0,385
	4	1,105	0,380	1,110	0,385
	5	1,105	0,390	1,105	0,385

Tabla LIV: Peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de desagregación de los comprimidos A-I: datos experimentales.

n	19 semanas		36 semanas	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
n	PESO (mg)			
1	404,5	411,1	410,0	409,5
2	403,0	411,0	406,3	412,0
3	415,0	413,9	407,9	413,0
4	409,9	408,2	405,6	408,0
5	402,7	414,6	398,2	417,5
6	407,4	410,6	392,6	409,6
7	405,6	412,4	401,0	411,0
8	411,5	409,7	403,8	411,6
9	403,6	413,9	407,9	408,8
10	400,0	410,9	406,2	412,5
11	411,4	410,0	404,1	411,9
12	412,1	416,5	406,1	410,0
13	410,0	409,5	401,9	418,6
14	406,3	408,4	401,0	407,4
15	411,8	410,0	409,3	412,1
16	409,7	418,4	398,1	408,5
17	414,1	414,3	396,2	415,9
18	412,5	412,7	412,6	407,3
19	409,8	411,3	405,0	416,7
20	408,4	410,0	404,2	411,2
n	FRIABILIDAD			
1	0,244	0,254	0,244	0,278
n	RESISTENCIA A LA FRACTURA (kg Erweka)			
1	8,75	8,25	8,50	6,50
2	10,75	7,25	12,25	5,00
3	8,25	8,75	8,25	7,00
4	10,00	8,00	8,50	5,50
5	9,00	7,75	11,00	6,25
n	TIEMPO DE DISAGREGACION			
1	19'30"	31'48"	31'18"	72'18"
2	20'00"	32'03"	32'30"	76'36"
3	20'23"	32'16"	33'15"	79'54"
4	20'55"	32'40"	34'54"	82'12"
5	21'20"	32'59"	35'35"	85'20"
6	21'30"	33'18"	36'19"	89'28"

Tabla LVII: Parámetros característicos del proceso de disolución del Amonafide.2HCl incluido en los comprimidos A-I.

		19 semanas		34 semanas	
		45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
n	t0 (min)				
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
n	t70 (min)				
1	34,09	114	97	114	
2	34,00	100	95	100	
3	32,00	100	95	103	
4	33,10	105	101	111	
5	34,00	112	101	106	
6	37,00	106	90	117	
n	t100 (min)				
1	48,53	534	260	540	
2	47,38	473	207	487	
3	46,53	356	211	406	
4	47,45	444	260	686	
5	48,53	447	255	560	
6	51,88	302	250	415	
n	Q10' (%)				
1	24,51	17,97	16,42	16,11	
2	23,32	20,91	17,84	18,86	
3	27,84	19,81	18,53	18,09	
4	25,95	21,35	17,54	16,44	
5	25,37	17,89	17,71	19,14	
6	23,22	17,36	19,55	16,73	
n	E.D.10' (%)				
1	15,20	10,58	9,60	9,66	
2	13,97	12,43	10,93	10,90	
3	15,77	12,05	11,26	10,67	
4	15,25	12,76	10,92	9,71	
5	14,26	10,48	10,94	11,24	
6	11,44	10,27	11,01	9,94	

Tabla LVIII: Estabilidad física de los comprimidos A-I: resultados del tratamiento estadístico de los parámetros de disolución del Amonafide.2HCl.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
t0 (min)	t°	6	0,00	0,00			
45°C-45%HR	t¹	6	0,00	0,00	-	-	100,00
	t²	6	0,00	0,00	-	-	
45°C-75%HR	t¹	6	0,00	0,00	-	-	100,00
	t²	6	0,00	0,00	-	-	
t70 (min)	t°	6	18,59	2,73			
45°C-45%HR	t¹	6	33,86	1,56	3,06	11,90**	182,14
	t²	6	96,58	4,11	2,26	38,75**	519,53
45°C-75%HR	t¹	6	106,21	5,92	4,72	32,86**	576,98
	t²	6	108,41	6,48	5,64*	31,29**	
t100 (min)	t°	6	37,09	5,17			
45°C-45%HR	t¹	6	48,38	1,87	1,60*	5,03**	130,44
	t²	6	240,52	24,70	22,82**	19,75**	648,48
45°C-75%HR	t¹	6	425,95	83,65	261**	11,36**	1269,64
	t²	6	515,74	104,52	408**	11,20**	
Q 10' (%)	t°	6	44,55	3,92			
45°C-45%HR	t¹	6	25,04	1,75	5,01	11,13**	56,21
	t²	6	17,93	1,05	14,03**	16,07**	40,25
45°C-75%HR	t¹	6	19,22	1,70	5,29*	14,52**	43,14
	t²	6	17,56	1,33	9,03*	16,00**	39,42
E.D.10' (%)	t°	6	24,27	2,95			
45°C-45%HR	t¹	6	14,65	0,89	10,88*	7,65**	60,36
	t²	6	10,91	0,73	16,48**	10,78**	44,95
45°C-75%HR	t¹	6	11,44	1,11	7,19*	9,95**	47,10
	t²	6	10,35	0,61	19,33**	11,28**	42,65

t° = tiempo inicial

t¹ = 19 semanas t² = 34 semanas

* 0,05 < P < 0,01

** P < 0,01

Tabla LIX: Resultados de la determinación cuantitativa del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-I.

n	19 semanas		34 semanas	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
	CONTENIDO EN PRINCIPIO ACTIVO (mg)			
1	197,14	186,85	193,07	182,81
2	198,43	186,60	196,99	184,81
3	191,65	184,41	195,92	178,83
4	188,30	189,14	198,25	174,81

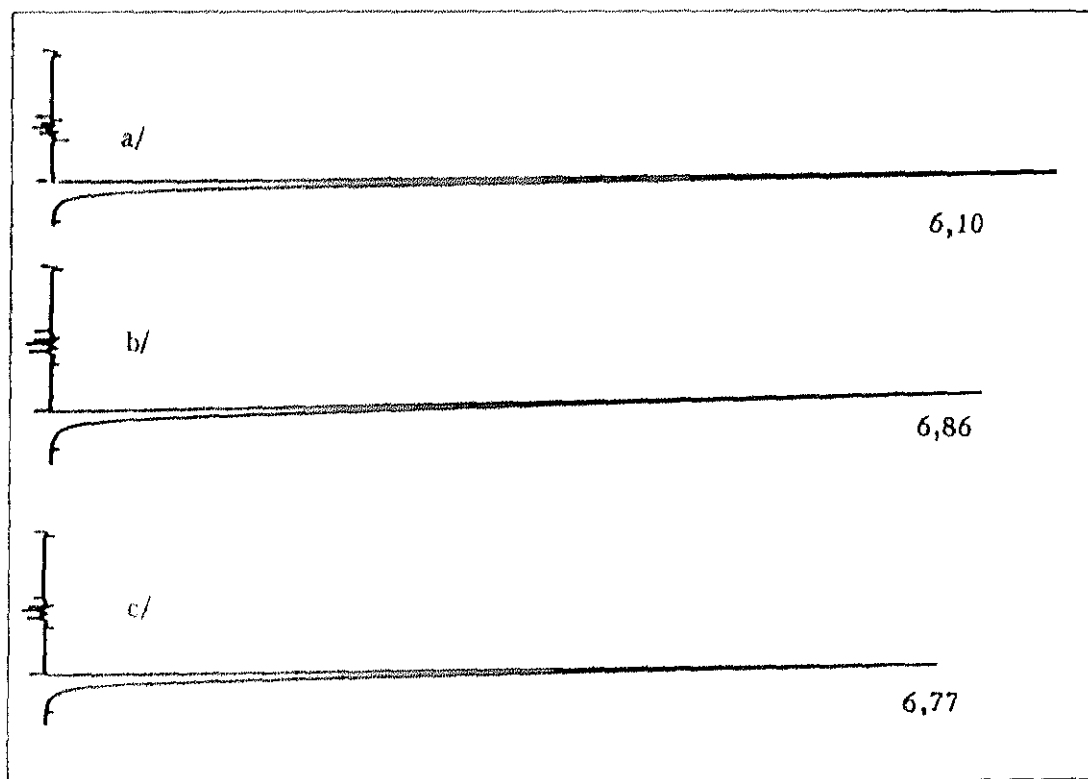


Figura 18. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-I almacenados durante 34 semanas:

- a/ Patrón de Amonafide.2HCl.
- b/ 45°C-45% H.R.
- c/ 45°C-75% H.R.

Tabla LX: Estabilidad química de los comprimidos A-I: resultados del tratamiento estadístico de los datos obtenidos en la cuantificación de Amonafide.2HCl.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
	t ⁰	20	197,56	4,92			
45°C-45VHR	t ¹	4	193,89	4,72	1,09	1,37	100,00
	t ²	4	196,06	2,21	4,97	0,59	
45°C-75VHR	t ¹	4	186,75	1,93	6,47	4,26**	94,53
	t ²	4	180,31	4,43	1,23	6,48**	91,27

t⁰= tiempo inicial

t¹= 19 semanas

t²= 34 semanas

** P<0,01

COMPRIMIDOS A-II

Estabilidad física.

No se detecta modificación estadísticamente significativa en las dimensiones de los comprimidos (tabla LXIII).

Se detectan variaciones con las condiciones y/o el tiempo de almacenamiento en el aspecto físico, el peso, la resistencia mecánica, el tiempo de disgregación y velocidad de disolución del principio activo de los comprimidos.

El excipiente mayoritario de estos comprimidos es el Emcompress y su comportamiento (26) frente a las condiciones de almacenamiento utilizadas en este estudio es fundamental para entender los resultados obtenidos.

En la superficie de los comprimidos A-II almacenados a 45°-75% H.R. ha aparecido un moteado marrón. Tras 34 semanas de almacenamiento, prácticamente toda la superficie de estos comprimidos está cubierta de este moteado. Los comprimidos se oscurecen con el tiempo de almacenamiento (figura 16).

El peso de los comprimidos varía con el almacenamiento. Cuando son sometidos a 45°C-45% H.R. disminuyen de peso, no afectándoles el tiempo de almacenamiento. Cuando son sometidos a 45°C-75% H.R. aumentan ligeramente de peso (0,78%) tras 19 semanas de almacenamiento, volviendo a su peso inicial después de 34 semanas (tabla LXIII).

En cuanto a la resistencia mecánica, ésta aumenta a bajas humedades relativas ambientales: los comprimidos se vuelven menos friables (tabla LXII) y su resistencia a la fractura (tabla LXIII) es mayor. Ambas modificaciones no se intensifican con el tiempo de almacenamiento. Por el contrario, tras 34 semanas a elevadas humedades relativas ambientales, la resistencia mecánica disminuye de forma muy

acusada: los comprimidos son más friables y la resistencia a la fractura disminuye. Esta disminución de la resistencia a la fractura ya se observa, pero algo menos acusada, a las 19 semanas de almacenamiento, y llama la atención que, en esta situación, vaya acompañada de una disminución y no de un aumento del valor de friabilidad.

Para dar una explicación a estos hechos hay que recordar que a humedades relativas similares al 45% y temperaturas alrededor de 45°C, la superficie exterior de las partículas de Emcompress pierden el agua de hidratación y se convierten en más duras, evitándose pérdidas de agua posteriores. Este comportamiento podría explicar que, bajo estas condiciones (45°C-45% H.R.), primero, disminuyan el peso y la friabilidad de los comprimidos y aumente su resistencia a la fractura y, segundo, que estas variaciones se mantengan constantes en el tiempo. Ahora bien, cuando la humedad relativa ambiental es mayor (45°C-75% H.R.), la pérdida de agua del Emcompress continúa; es decir, el tiempo de almacenamiento sí influye en el contenido en agua del diluyente y esto repercute en estas características físicas de los comprimidos A-II, que sufren una gran modificación al prolongar el tiempo de exposición. Bajo estas condiciones de 45°C-75% H.R., también se sabe que si el Emcompress se combina con sustancias altamente higroscópicas, como lo son el Amonafide.2HCl y el Avicel, esta pérdida de humedad causa un reblandecimiento de la "matriz" del comprimido debido al debilitamiento de las uniones interparticulares. Sin embargo, las capas superficiales del comprimido no se ven afectadas de esta forma. Esto puede justificar, por un lado, que el valor de friabilidad a las 19 semanas disminuya y a las 34 semanas aumente respecto al valor inicial, mientras que la dureza disminuye progresivamente en ambos casos.

El tiempo de disgregación aumenta con el tiempo de almacenamiento, tanto a bajas como a altas humedades relativas ambientales, pero en este último caso (elevadas humedades relativas) el incremento es mucho más acusado (tabla LXIII).

Estos valores de disgregación dependen fundamentalmente del

comportamiento higroscópico del agente disgregante: el Avicel, cuyo comportamiento se manifiesta ya con humedades relativas del 45%. Este hecho merma su capacidad disgregante, primero por captar el agua cedida por el Emcompress y luego por captar el agua del ambiente.

La disolución, en concordancia con lo que ocurre con la disgregación, se enlentece con el almacenamiento, tanto a bajas como a altas humedades relativas (tabla LXVI). En este último caso (75% H.R.), el enlentecimiento es mucho más acusado detectándose una intensa modificación de todos los parámetros de disolución, tanto a las 19 como a las 34 semanas de almacenamiento, mientras que a bajas humedades relativas (45% H.R.) sólo se detectan tales modificaciones después de 34 semanas de almacenamiento. En ningún caso se observa tiempo de latencia.

Según los datos expuestos, se puede pensar que la variación de la disgregación de los comprimidos A-II con el tiempo de almacenamiento condiciona la modificación de la velocidad de disolución. Sin embargo, se observa una excepción: a las 19 semanas de almacenamiento con un 45% de humedad relativa, la velocidad de disolución del Amonafide.2HCl no se modifica respecto a tiempo inicial, aunque la disgregación sí lo hace. Esto es debido, posiblemente, a que el pequeño retraso en la disgregación del comprimido se ve compensado por la elevada solubilidad del principio activo.

Los perfiles de disolución (figura 19), tanto a las 19 como a las 34 semanas en un ambiente de un 75% de humedad relativa, no se pueden ajustar a una ecuación monoexponencial: se observa un primer tramo (primeros 20 minutos del ensayo de disolución) que refleja la rápida difusión del principio activo procedente de las capas externas del comprimido. El retraso en la disgregación limita la difusión posterior del principio activo procedente de la "matriz" del comprimido hasta que, al producirse la disgregación, queda libre todo el principio activo. Las diferencias cuantitativas entre los perfiles obtenidos a los dos tiempos de muestreo pueden explicarse por las diferencias en el retraso de la

disgregación del comprimido.

Estabilidad química.

Según se desprende de los datos de la tabla-LXVIII, sólo se detecta degradación estadísticamente significativa del Amonafide.2HCl tras 34 semanas de exposición a 45°C-75% H.R.. El porcentaje de principio activo degradado es del 2,20% respecto al contenido inicial. En la figura 20 se pueden apreciar los cromatogramas, obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-II tras 1 año de almacenamiento.

Si se mantiene la hipótesis de la posible descomposición de principios activos hidrosolubles, como el Amonafide.2HCl, por disolución en el agua libre captada, en estos comprimidos A-II la captación de agua bajo estas condiciones de almacenamiento (45°C-75% H.R.) es debida únicamente al propio Amonafide.2HCl y a dos excipientes minoritarios (Avicel y PVP). Se podía pensar, a priori, que, igual que la deshidratación característica del Emcompress bajo 45°C-75% H.R. influye enormemente en la estabilidad física de los comprimidos A-II, pudiera influir, de igual forma, en la estabilidad química favoreciendo la degradación del principio activo, pero, a la vista de los resultados experimentales, no es así, quizás, por la presencia del Avicel. En este sentido, se ha visto que los derivados de celulosa, como el Avicel, son excipientes estabilizadores (27) porque captan la humedad del comprimido, disminuyendo la cantidad de agua libre del sistema disponible para la alteración química del principio activo (37).

Tabla LXI: Dimensiones de los comprimidos A-II: datos experimentales.

	n	45°C-45% H.R.		45°C-75% H.R.	
		diámetro (cm)	altura (cm)	diámetro (cm)	altura (cm)
1 0 n a s	1	1,105	0,355	1,105	0,360
	2	1,105	0,355	1,105	0,355
	3	1,105	0,350	1,105	0,355
	4	1,105	0,355	1,105	0,350
	5	1,105	0,355	1,105	0,350
3 4 n a s	1	1,105	0,360	1,105	0,365
	2	1,105	0,350	1,105	0,360
	3	1,105	0,355	1,105	0,355
	4	1,105	0,355	1,105	0,355
	5	1,105	0,360	1,105	0,355

Tabla LXII: Peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación de los comprimidos A-II: datos experimentales.

n	19 semanas		34 semanas	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
	PESO (mg)			
1	419,1	417,7	412,0	422,2
2	408,4	422,5	422,5	409,9
3	406,3	422,3	422,5	434,8
4	407,8	426,7	403,6	416,7
5	420,0	423,3	400,3	419,1
6	399,7	420,0	418,5	428,4
7	414,4	420,9	406,2	409,9
8	402,7	421,2	401,8	431,0
9	391,7	419,6	409,3	422,8
10	419,5	424,7	403,3	411,3
11	400,9	417,8	423,3	411,1
12	391,7	421,1	407,7	427,9
13	422,8	419,9	400,7	414,0
14	418,8	420,7	404,6	413,0
15	392,4	419,8	398,2	417,7
16	402,3	420,4	422,5	412,1
17	408,0	423,7	411,3	411,4
18	407,7	419,6	413,0	427,9
19	412,5	421,6	401,0	413,2
20	412,5	422,1	404,0	416,3
	FRIABILIDAD			
n	0,26%	0,14%	0,25%	0,61%
	RESISTENCIA A LA FRACTURA (kg Erweka)			
1	9,75	5,00	8,75	3,25
2	10,00	5,50	8,75	3,00
3	11,00	5,25	9,25	3,00
4	10,00	5,75	11,75	3,50
5	9,75	6,00	12,00	3,75
	TIEMPO DE DISGREGACION			
1	6'05"	13'20"	8'45"	90'10"
2	6'10"	13'40"	9'00"	90'45"
3	6'15"	14'02"	9'55"	90'57"
4	6'25"	15'45"	10'30"	91'30"
5	7'17"	16'30"	11'06"	92'00"
6	7'42"	17'07"	11'20"	92'40"

Tabla LXIII: Estabilidad física de los comprimidos A-II: resultados del tratamiento estadístico de los datos de dimensiones, peso, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
DIMENSIONES: a (cm)	t ⁰	5	1,105	0,000			
45°C-45%HR	t ¹	5	1,105	0,000	-	-	100,00
	t ²	5	1,105	0,000	-	-	
45°C-75%HR	t ¹	5	1,105	0,000	-	-	100,00
	t ²	5	1,105	0,000	-	-	
DIMENSIONES: b (cm)	t ⁰	5	0,355	0,003			
45°C-45%HR	t ¹	5	0,354	0,002	-	-	100,00
	t ²	5	0,356	0,004	-	-	
45°C-75%HR	t ¹	5	0,354	0,004	-	-	100,00
	t ²	5	0,358	0,004	1,60	1,18	
PESO (mg)	t ⁰	20	418,00	4,80			
45°C-45%HR	t ¹	20	407,96	9,66	4,06**	4,17**	97,76
	t ²	20	409,31	8,47	3,12**	4,01**	
45°C-75%HR	t ¹	20	421,28	2,20	4,76**	2,75*	100,78
	t ²	20	418,53	7,82	2,66*	0,24	100,00
R. FRACTURA (Kg)	t ⁰	5	7,90	0,38			
45°C-45%HR	t ¹	5	10,10	0,52	1,87	7,66**	127,85
	t ²	5	10,10	1,64	18,61**	2,93*	
45°C-75%HR	t ¹	5	3,50	0,39	1,09	9,80**	69,62
	t ²	5	3,30	0,33	1,35	20,57**	41,77
T. DISGREGACION (min)	t ⁰	6	5,50	0,12			
45°C-45%HR	t ¹	6	6,65	0,67	28,82**	4,11**	120,91
	t ²	6	10,10	1,07	72,92**	10,44**	183,64
45°C-75%HR	t ¹	6	15,07	1,60	162**	14,61**	274,00
	t ²	6	91,29	0,95	57,55**	219**	1659,82

t⁰ = tiempo inicial t¹ = 19 semanas t² = 34 semanas

* 0,05 > P > 0,01

** P < 0,01

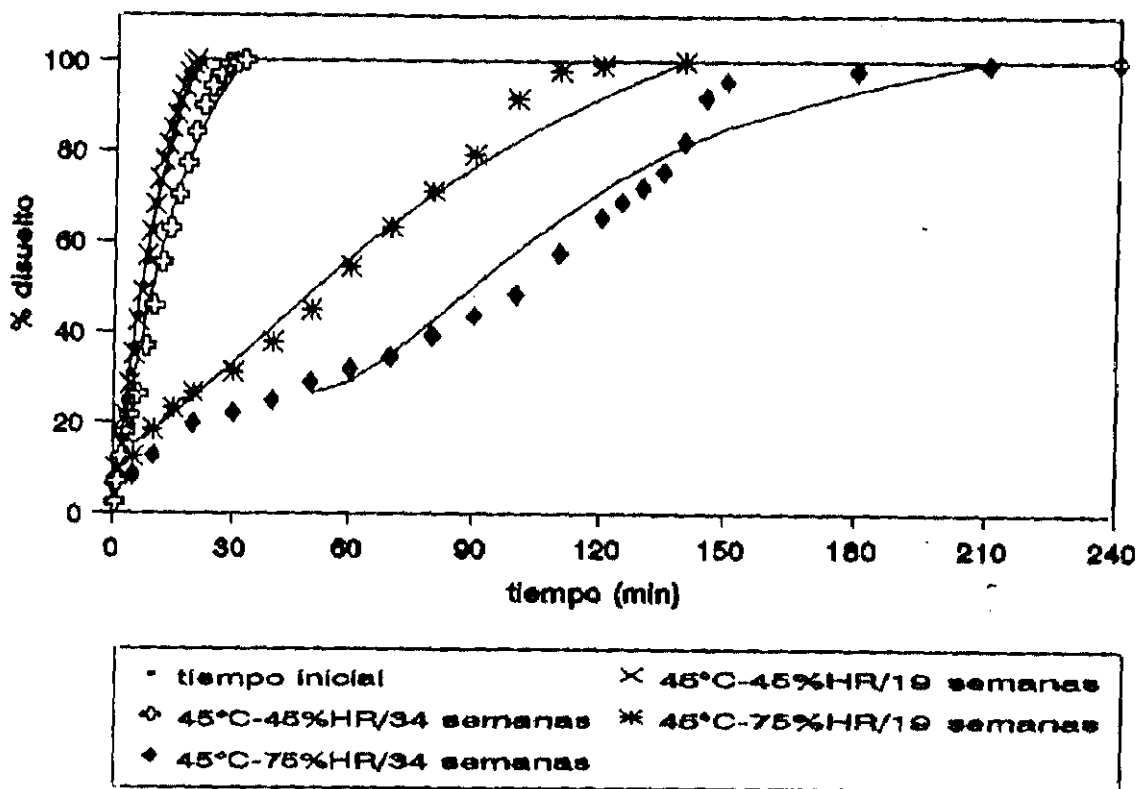


Figura 19. Perfiles de disolución de los comprimidos A-II.

Tabla LXIV: Parámetros de las ecuaciones matemáticas que definen los perfiles de disolución del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-II.

$$Q(\%) = B'(1-e^{-k't}) + B''(1-e^{-k''t}) + C$$

		B'	σ	k'	σ	B''	σ	k''	σ	C	σ
		(%)	(%)	(min ⁻¹)	(min ⁻¹)	(%)	(%)	(min ⁻¹)	(min ⁻¹)	(%)	(%)
45°C-45%HR	t ¹	136,20	5,49	0,070	0,006	-	-	-	-	0,00	-
	t ²	159,10	10,30	0,036	0,004	-	-	-	-	0,00	-
45°C-75%HR	t ¹	-285,00	-	0,021	-	399,20	-	0,016	-	12,42	-
	t ²	2417,00	-	0,027	-	-2546,00	-	0,030	-	18,99	-

t¹ = 19 semanas

t² = 34 semanas

Tabla LXV: Parámetros característicos del proceso de disolución del Amonafide.2HCl incluido en los comprimidos A-II.

		19 semanas		36 semanas	
		45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
n	t ₀ (min)				
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
n	t ₇₀ (min)				
1	10,67	88	20,27	124	
2	10,42	80	14,93	124	
3	10,68	86	15,38	128	
4	9,21	92	15,91	123	
5	11,54	96	15,09	126	
6	10,43	89	15,51	124	
n	t ₁₀₀ (min)				
1	19,54	128	30,43	204	
2	19,15	115	25,89	204	
3	20,26	124	26,41	210	
4	18,61	132	26,09	202	
5	20,00	147	27,59	207	
6	19,07	129	26,04	205	
n	Q ₁₀ ' (%)				
1	67,08	17,49	37,84	11,95	
2	67,93	15,97	51,46	12,84	
3	66,64	15,50	50,11	11,62	
4	74,19	17,05	47,61	12,23	
5	61,57	16,50	51,37	12,42	
6	67,74	16,62	49,39	12,78	
n	E.D. 10' (%)				
1	36,38	9,58	18,07	8,21	
2	36,52	10,71	26,72	8,92	
3	35,47	10,33	26,11	7,67	
4	40,55	10,71	24,25	8,09	
5	29,67	10,41	26,25	8,22	
6	35,04	10,15	25,18	8,42	

Tabla LXVI: Estabilidad física de los comprimidos A-II: resultados del tratamiento estadístico de los parámetros de disolución del Amonafide.2HCl.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
t0 (min)	t ⁰	6	0,04	0,06			
45°C-45%HR	t ¹	6	0,00	0,00	-	-	
	t ²	6	0,00	0,00	-	-	
45°C-75%HR	t ¹	6	0,00	0,00	-	-	
	t ²	6	0,00	0,00	-	-	
t70 (min)	t ⁰	6	10,47	1,48			
45°C-45%HR	t ¹	6	10,49	0,75	3,88	0,03	100,00
	t ²	6	16,18	2,03	1,89	5,57**	154,54
45°C-75%HR	t ¹	6	88,53	5,55	14,07**	33,30**	845,56
	t ²	6	124,87	1,69	1,31	124**	1192,65
t100 (min)	t ⁰	6	18,57	2,27			
45°C-45%HR	t ¹	6	19,44	0,62	13,54**	0,91	100,00
	t ²	6	27,08	1,76	1,67	7,26**	145,83
45°C-75%HR	t ¹	6	129,20	10,43	21,06**	25,39**	695,75
	t ²	6	205,31	2,71	1,43	129**	1105,60
Q 10' (%)	t ⁰	6	67,89	6,31			
45°C-45%HR	t ¹	6	67,53	4,03	2,46	0,12	100,00
	t ²	6	47,83	5,47	1,33	5,88**	70,45
45°C-75%HR	t ¹	6	16,52	0,72	77,34**	19,81**	24,33
	t ²	6	12,31	0,47	177**	21,51**	18,13
E.D.10' (%)	t ⁰	6	36,43	3,64			
45°C-45%HR	t ¹	6	35,61	3,51	1,08	0,40	100,00
	t ²	6	24,46	3,25	1,26	6,01**	67,14
45°C-75%HR	t ¹	6	10,32	0,42	74,63**	14,45**	28,33
	t ²	6	8,26	0,41	78,76**	18,83**	22,67

t⁰ = tiempo inicial t¹ = 19 semanas t² = 34 semanas

** P<0,01

Tabla LXVII: Resultados de la determinación cuantitativa del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-II.

n	19 semanas		34 semanas	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
	CONTENIDO EN PRINCIPIO ACTIVO (mg)			
1	198,20	191,94	194,38	194,03
2	199,63	199,11	206,93	197,78
3	200,40	196,19	204,09	192,50
4	201,29	193,78	200,91	199,68
5				193,34

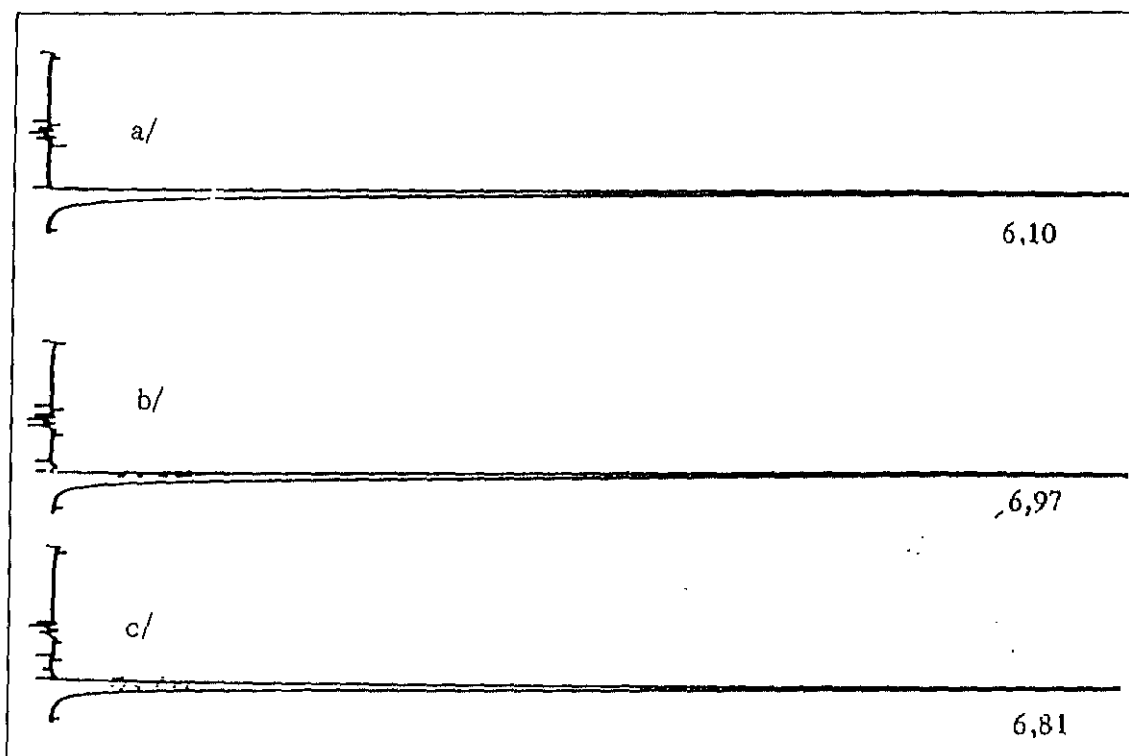


Figura 20. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-II almacenados durante 34 semanas:

- a/ Patrón de Amonafide.2HCl.
- b/ 45°C-45% H.R.
- c/ 45°C-75% H.R.

Tabla LXVIII: Estabilidad química de los comprimidos A-II: resultados del tratamiento estadístico de los datos obtenidos en la cuantificación de Amonafide.2HCl.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
	t ⁰	20	199,87	7,76			
45°C-45%HR	t ¹	4	199,88	1,31	—	—	100,00
	t ²	4	201,58	5,39	—	—	
45°C-75%HR	t ¹	4	195,25	3,10	6,26	1,15	100,00
	t ²	5	195,47	3,10	6,26*	1,98 ₂	97,80

t⁰ = tiempo inicial

t¹ = 19 semanas

t² = 34 semanas

* 0,05 > P > 0,01



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

TITULO: DESARROLLO GALENICO DE COMPRIMIDOS DE DOS NUEVOS
ANTICANCEROSOS (MITONAFIDE Y AMONAFIDE.2HCl):
ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

III
de IV Vol

Memoria presentada para optar al grado de Doctor por:
MARIA ESTHER GIL ALEGRE

Dirigida por: Dra. Dña. MARIA ANTONIA CAMACHO SANCHEZ
y
Dra. Dña. ANA ISABEL TORRES SUAREZ

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGIA FARMACEUTICA

Madrid, Septiembre 1.995

COMPRIMIDOS A-III

Estabilidad física.

No se detecta modificación estadísticamente significativa en las dimensiones de los comprimidos (tabla LXXI).

Se detectan variaciones con las condiciones y/o el tiempo de almacenamiento en todas las demás características físicas estudiadas: aspecto, peso, friabilidad, resistencia a la fractura, disgregación y cinética de disolución.

Durante el almacenamiento se observa la aparición de un moteado oscuro en la superficie de estos comprimidos. Los comprimidos se oscurecen, principalmente, cuando se almacenan en ambientes de elevada humedad relativa (45°C-75% H.R.) (figura 16).

El peso de los comprimidos sometidos a 45°C-45% H.R. disminuye con el almacenamiento y esta disminución es más intensa al aumentar el tiempo de exposición. El peso de los comprimidos sometidos a 45°C-75% H.R. aumenta, en un 0,91%, tras 19 semanas de almacenamiento y disminuye, en un 1,93%, tras 34 semanas (tabla LXXI).

Los valores de friabilidad obtenidos son mayores que los iniciales (0,42%) en las dos condiciones de almacenamiento estudiadas. Además, los comprimidos son más friables al aumentar la humedad relativa ambiental y el tiempo de almacenamiento, como denota el valor de friabilidad de los comprimidos almacenados 34 semanas a 45°C-75% H.R. (tabla LXX).

Este incremento en la friabilidad podría achacarse a la técnica de elaboración de estos comprimidos: la compresión directa no establece una unión entre los componentes de la formulación tan íntima como la conferida por una granulación vía húmeda convencional, y ésta puede ser la causa de que el debilitamiento de la estructura del comprimido provocado por la humedad ambiental tenga un mayor efecto sobre la friabilidad de estos comprimidos A-III.

La resistencia a la fractura varia de forma diferente según la humedad relativa ambiental. Cuando ésta es del 45%, la resistencia a la fractura aumenta tras 19 semanas de almacenamiento, pero presenta el mismo valor que inicialmente a las 34 semanas. Cuando la humedad relativa ambiental es del 75%, la resistencia a la fractura disminuye con el paso del tiempo (tabla LXXI).

Existen datos bibliográficos que indican que las variaciones en la resistencia a la fractura de comprimidos elaborados por la misma técnica que la empleada en los A-III están relacionadas principalmente con las variaciones en el contenido en agua de tales comprimidos (23).

Así, el aumento en la resistencia a la fractura que se detecta después de 19 semanas almacenados bajo una humedad relativa del 45% podría ser debido a la pérdida de agua del Emcompress (excipiente mayoritario). Al continuar el almacenamiento bajo esas condiciones el Emcompress no pierde más agua, pero el comportamiento higroscópico del Avicel y del PVP, potenciado porque no están incluidos en ningún gránulo, compensa la pérdida de agua y por tanto el endurecimiento inicial.

A elevada humedad relativa ambiental (75%), el trasiego de agua en los comprimidos debido al comportamiento del Emcompress y de las sustancias higroscópicas explica, como ya se hizo en el caso de los comprimidos A-II, la disminución de la resistencia a la fractura.

El tiempo de disgregación aumenta en las dos condiciones de almacenamiento estudiadas. Bajo una humedad relativa del 45% este incremento sólo se detecta después de 34 semanas, mientras que bajo una humedad relativa del 75% ya se pone de manifiesto a las 19 semanas y se acentúa conforme aumenta el tiempo de exposición (tabla LXXI).

La explicación podría ser la misma que la dada para los comprimidos A-II. De hecho A-II y A-III presentan análoga composición. Se diferencian en la técnica de elaboración, y esta diferencia es la que marca las desigualdades cuantitativas en los valores de disgregación

entre estos dos tipos de comprimidos.

La velocidad de disolución disminuye respecto a tiempo inicial cuando la humedad relativa ambiental es del 75%. Los perfiles del proceso (figura 21) indican una modificación en la velocidad de disolución al aumentar el tiempo de almacenamiento, pero, de los cuatro parámetros de disolución utilizados para caracterizar el proceso, sólo el valor de t_{70} se ve afectado significativamente. No aparece tiempo de latencia (tabla LXXIV).

Cuando la humedad relativa ambiental es del 45%, la velocidad de disolución varía respecto al tiempo inicial en sentido opuesto según el tiempo de almacenamiento. Así, a las 19 semanas aumenta y a las 34 disminuye. Estas variaciones se observan en los perfiles de disolución y también se manifiestan en los valores de todos los parámetros cinéticos representativos del proceso de disolución. Tampoco existe tiempo de latencia.

El aumento en el tiempo de disgregación detectado después de 34 semanas de almacenamiento a 45% H.R. podría justificar la disminución en la velocidad de disolución observada en estas condiciones. Sin embargo, esta concordancia entre los valores de disgregación y disolución no existe a las 19 semanas de almacenamiento. En este caso, el aumento en la velocidad de disolución que se detecta sólo podría achacarse a la pérdida de agua sufrida por los comprimidos, que aumentaría la avidez de los componentes hidrosolubles por el medio de disolución.

Al contrario de lo que ocurre bajo un 45% H.R., en los comprimidos A-III almacenados bajo un 75% H.R. sólo se puede establecer la concordancia entre las variaciones en la disgregación y disolución a las 19 semanas de almacenamiento: el tiempo de disgregación aumenta y la velocidad de disolución disminuye. Al prolongar el almacenamiento en estas condiciones, el tiempo de disgregación continúa aumentando, sin que la cinética de disolución varíe de forma sustancial. Este hecho podría ser debido a la elevada hidrosolubilidad del principio activo y

a la gran superficie de contacto con el medio de disolución, consecuencia de la técnica utilizada para elaborar estos comprimidos.

Estabilidad química.

Según los resultados de la tabla LXXVI, sólo se detecta degradación significativa estadísticamente a las 34 semanas de almacenamiento bajo un ambiente con un 75% de H.R.. El porcentaje de principio activo degradado es del 10,85% respecto al contenido inicial. Esta disminución en el contenido en principio activo se determina a partir del análisis de los cromatogramas de la figura 22.

La explicación de estos resultados podría ser la misma que la dada en los comprimidos A-II, pues tienen la misma composición, pero habría que añadir que la degradación del principio activo en los comprimidos A-III se va a ver favorecida porque, en este tipo de comprimidos, el principio activo está más accesible a la acción directa de los factores ambientales causa de inestabilidad, dada la técnica de elaboración empleada (43).

Tabla LXIX: Dimensiones de los comprimidos A-III: datos experimentales.

		45°C-45% H.R.		45°C-75% H.R.		
		n	diámetro (cm)	altura (cm)	diámetro (cm)	altura (cm)
19	#	1	1,105	0,305	1,105	0,310
	a	2	1,105	0,310	1,105	0,310
	n	3	1,105	0,310	1,105	0,315
	a	4	1,105	0,305	1,105	0,310
	n	5	1,105	0,315	1,105	0,305
34	#	1	1,105	0,310	1,105	0,315
	a	2	1,105	0,310	1,105	0,310
	n	3	1,105	0,315	1,105	0,315
	a	4	1,105	0,315	1,105	0,315
	n	5	1,105	0,310	1,105	0,310

Tabla LXX: Peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación de los comprimidos A-III: datos experimentales.

n	19 semanas		34 semanas	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
n	PESO (mg)			
1	372,3	374,1	359,7	370,4
2	376,7	379,3	357,7	367,1
3	359,5	373,6	353,1	378,5
4	381,1	379,2	361,5	374,9
5	354,3	379,6	354,0	372,4
6	355,5	381,9	364,0	365,8
7	374,5	383,5	347,7	371,1
8	379,1	381,2	349,5	376,8
9	358,4	376,9	351,3	379,9
10	357,1	381,4	349,5	370,0
11	361,1	384,1	356,9	364,5
12	358,1	382,1	352,6	359,0
13	363,6	379,6	362,3	360,4
14	355,9	383,1	347,2	365,9
15	369,4	378,3	365,6	360,8
16	366,8	377,4	358,1	367,1
17	362,1	379,1	354,7	370,5
18	353,6	384,5	357,0	370,0
19	370,8	379,2	357,1	369,1
20	366,7	378,1	356,5	368,9
n	FRIABILIDAD			
1	0,48%	1,05%	0,56%	3,07%
n	RESISTENCIA A LA FRACTURA (kg Erweka)			
1	6,25	3,75	3,75	2,25
2	6,75	3,00	3,00	1,75
3	6,25	4,00	6,50	4,00
4	6,50	3,25	6,00	3,50
5	6,00	3,50	5,25	2,00
n	TIEMPO DE DISGREGACION			
1	4'00"	13'20"	5'50"	32'30"
2	4'15"	14'30"	6'00"	33'00"
3	4'55"	15'25"	6'32"	33'35"
4	5'30"	15'40"	6'55"	34'05"
5	6'20"	16'05"	7'18"	34'40"
6	6'45"	16'22"	7'45"	35'10"

Tabla LXXI: Estabilidad física de los comprimidos A-III: resultados del tratamiento estadístico de los datos de dimensiones, peso, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
DIMENSIONES: a (cm)	t ⁰	5	1,105	0,000			
45°C - 45%HR	t ¹	5	1,105	0,000	-	-	100,00
	t ²	5	1,105	0,000	-	-	
45°C - 75%HR	t ¹	5	1,105	0,000	-	-	100,00
	t ²	5	1,105	0,000	-	-	
DIMENSIONES: b (cm)	t ⁰	5	0,311	0,005			
45°C - 45%HR	t ¹	5	0,309	0,004	1,00	0,76	100,00
	t ²	5	0,312	0,003	-	-	
45°C - 75%HR	t ¹	5	0,310	0,004	-	-	100,00
	t ²	5	0,313	0,003	2,33	0,89	
PESO (mg)	t ⁰	20	376,40	4,48			
45°C - 45%HR	t ¹	20	364,83	8,68	3,73**	5,30**	96,93
	t ²	20	355,79	5,28	1,39	13,29**	94,52
45°C - 75%HR	t ¹	20	379,81	1,00	2,21*	2,83**	100,91
	t ²	20	369,15	5,69	1,61	4,47**	98,07
R. FRACTURA (Kg)	t ⁰	5	4,05	0,21			
45°C - 45%HR	t ¹	5	6,43	0,25	1,88	14,55**	156,79
	t ²	5	4,90	1,46	50,83**	1,27	100,00
45°C - 75%HR	t ¹	5	3,50	0,34	3,57	2,75*	86,42
	t ²	5	2,70	0,93	22,41**	2,88*	66,67
T. DISGREGACION (min)	t ⁰	6	4,48	0,31			
45°C - 45%HR	t ¹	6	5,29	3,11	14,38**	1,72	100,00
	t ²	6	6,72	0,71	8,73*	6,61**	150,00
45°C - 75%HR	t ¹	6	15,23	3,13	13,91**	11,48**	339,96
	t ²	6	11,83	1,21	11,78**	63,28**	775,13

t⁰ = 12 semanas t¹ = 19 semanas t² = 34 semanas

* P < 0,05 ** P < 0,01

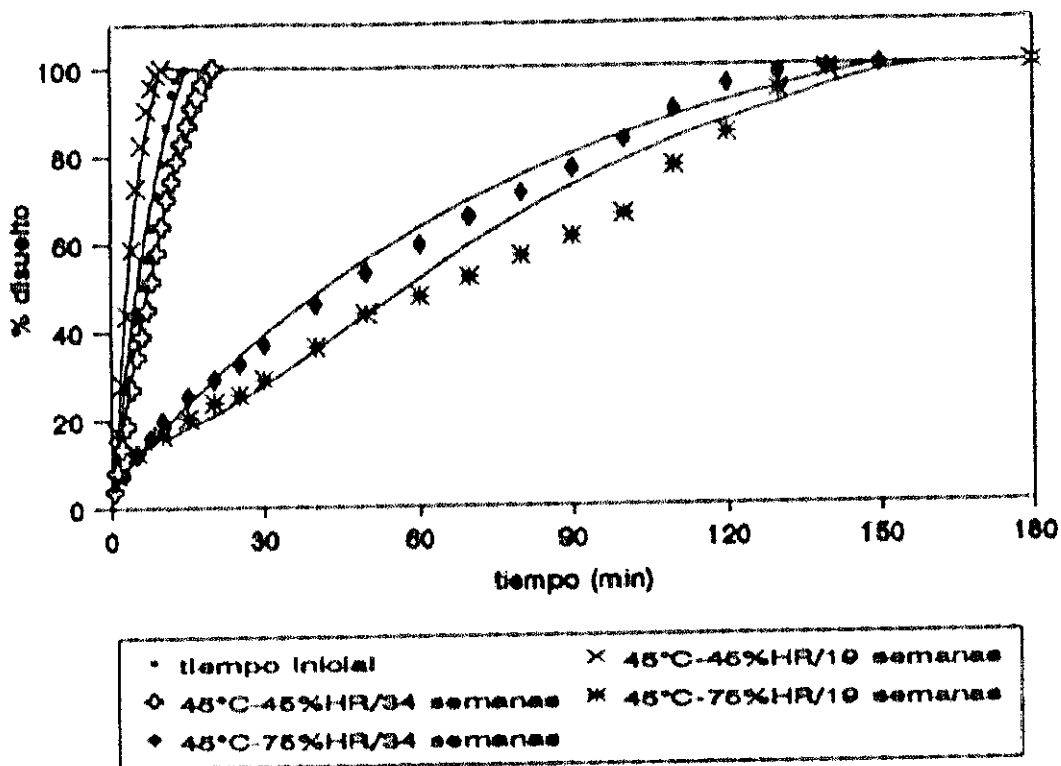


Figura 21. Perfiles de disolución de los comprimidos A-III.

Tabla LXXII: Parámetros de las ecuaciones matemáticas que definen los perfiles de disolución del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-III.

$$Q(\%) = B'(1 - e^{-k't}) + B''(1 - e^{-k''t}) + C$$

		B'	σ	k'	σ	B''	σ	k''	σ	C	σ
		(%)	(%)	(min ⁻¹)	(min ⁻¹)	(%)	(%)	(min ⁻¹)	(min ⁻¹)	(%)	(%)
45°C-45%HR	t ¹	139,40	5,69	0,158	0,015	-	-	-	-	0,00	-
	t ²	166,40	4,30	0,050	0,002	-	-	-	-	0,00	-
45°C-75%HR	t ¹	698,20	-	0,022	-	-603,30	-	0,026	-	15,63	-
	t ²	114,50	4,81	0,008	0,001	-	-	-	-	7,42	0,73

t¹ = 19 semanas

t² = 34 semanas

Tabla LXXIII: Parámetros característicos del proceso de disolución del Amonafide.2HCl incluido en los comprimidos A-III.

		19 semanas		34 semanas	
		45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
n	t0 (min)				
1	0,26	0		0,37	0
2	0,00	0		0,00	0
3	0,00	0		0,00	0
4	0,00	0		0,00	0
5	0,32	0		0,00	0
6	0,21	0		0,00	0
n	t70 (min)				
1	5,46	102		11,42	66
2	4,30	109		10,80	74
3	4,90	92		10,65	80
4	4,02	98		11,15	72
5	4,62	97		11,31	79
6	5,23	83		10,90	77
n	t100 (min)				
1	9,73	167		19,16	131
2	7,19	169		18,17	131
3	7,93	141		17,95	143
4	7,56	147		18,66	147
5	8,93	142		18,67	140
6	9,24	129		18,71	141
n	Q10' (%)				
1	100	15,30		63,06	20,60
2	100	18,83		63,19	18,00
3	100	18,18		64,28	16,89
4	100	13,76		63,11	17,96
5	100	10,86		62,43	16,92
6	100	19,09		64,36	18,95
n	E.D. 10' (%)				
1	59,91	9,07		32,59	12,61
2	47,34	11,99		32,06	10,87
3	51,64	9,27		33,06	10,17
4	56,49	7,43		32,79	9,87
5	65,73	8,06		32,24	10,52
6	62,09	9,72		34,12	12,45

Tabla LXXIV: Estabilidad física de los comprimidos A-III: resultados del tratamiento estadístico de los parámetros de disolución del Amonafide.2HCl.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
t0 (min)	t ⁰	6	0,01	0,00			
45°C - 45*HR	t ¹	6	0,13	0,15	3,18*	1,40	100,00
	t ²	6	0,06	0,15	3,19*	0,19	
45°C - 75*HR	t ¹	6	0,00	0,00	-	-	
	t ²	6	0,00	0,00	-	-	
t70 (min)	t ⁰	6	8,81	1,97			
45°C - 45*HR	t ¹	6	4,75	0,55	3,11	8,91**	53,92
	t ²	6	11,04	0,39	10,24*	5,38**	125,31
45°C - 75*HR	t ¹	6	96,96	8,68	80,21**	24,71**	1100,57
	t ²	6	74,90	5,36	30,56**	29,73**	850,17
t100 (min)	t ⁰	6	13,69	0,88			
45°C - 45*HR	t ¹	6	8,43	1,01	1,32	9,57**	61,58
	t ²	6	18,55	0,43	4,20	12,13**	135,50
45°C - 75*HR	t ¹	6	149,35	15,84	313**	21,21**	1052,23
	t ²	6	138,75	6,52	54,50**	46,54**	
Q 10' (%)	t ⁰	6	79,18	6,15			
45°C - 45*HR	t ¹	6	100,00	0,00		7,57**	126,29
	t ²	6	63,41	0,77	65,66**	6,24**	80,08
45°C - 75*HR	t ¹	6	16,00	0,29	3,40*	22,18**	21,61
	t ²	6	18,22	1,40	19,35**	23,68**	
E.D. 10' (%)	t ⁰	6	41,59	4,47			
45°C - 45*HR	t ¹	6	57,27	6,92	2,32	4,57**	136,22
	t ²	6	32,81	1,74	17,80**	4,96**	78,14
45°C - 75*HR	t ¹	6	9,26	1,58	8,01**	16,89**	24,22
	t ²	6	11,08	1,17	14,61**	16,37**	

t⁰ = tiempo inicial t¹ = 1ª semana t² = 2ª semana
 * p < 0,05 ** p < 0,01

Tabla LXXV: Resultados de la determinación cuantitativa del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-III.

n	19 semanas		34 semanas	
	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.	45°C-45% H.R.	45°C-75% H.R.
	CONTENIDO EN PRINCIPIO ACTIVO (mg)			
1	199,58	185,81	204,69	171,63
2	201,42	184,21	207,71	172,43
3	201,65	191,38	194,27	170,24
4	204,06	195,17	201,23	176,02

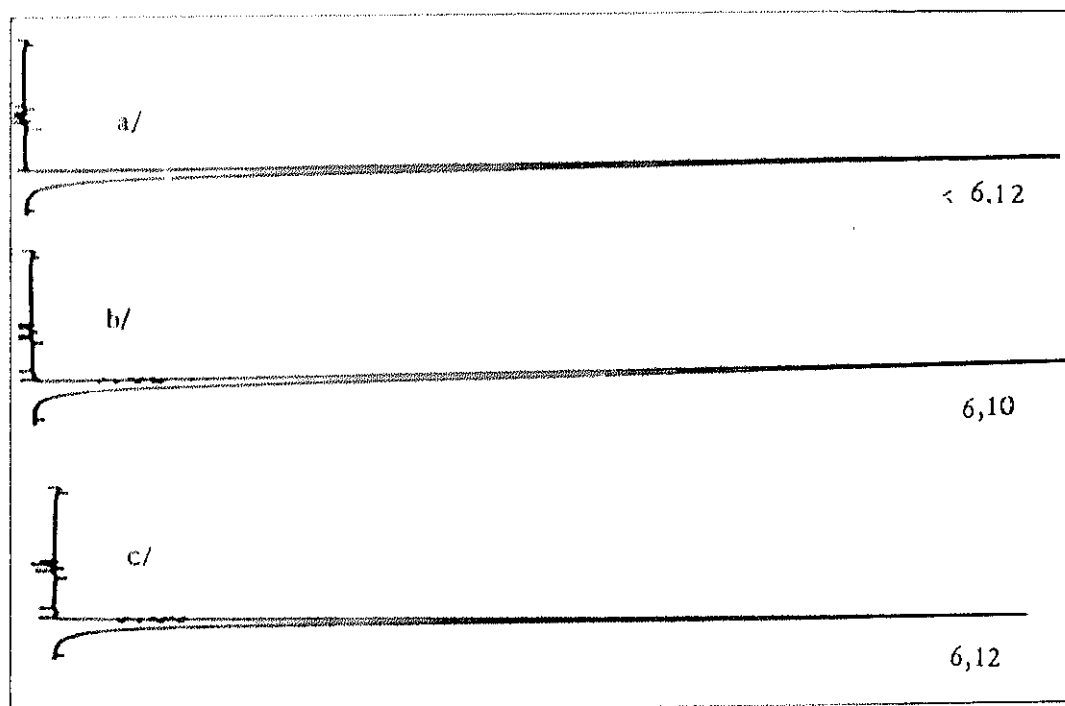


Figura 22. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-III almacenados durante 34 semanas:

- a/ Patrón de Amonafide.2HCl.
- b/ 45°C-45% H.R.
- c/ 45°C-75% H.R.

Tabla LXXVI: Estabilidad química de los comprimidos A-III: resultados del tratamiento estadístico de los datos obtenidos en la cuantificación de Amonafide.2HCl.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
	t ⁰	20	193,58	9,27			
45°C-45HR	t ¹	4	202,18	2,08	-	-	100,00
	t ²	4	201,97	5,78	-	-	
45°C-75HR	t ¹	4	189,14	5,06	2,89	0,73	100,00
	t ²	4	172,58	2,46	14,13*	8,71**	89,15

t⁰ = tiempo inicial

t¹ = 19 semanas

t² = 34 semanas

* 0,05 < P < 0,01

** P < 0,01

5.2.3. DISCUSION

COMPRIMIDOS CON MITONAFIDE

En las figuras 23 y 24 se recoge la intensidad de las variaciones producidas con el envejecimiento acelerado por efecto de la humedad relativa ambiental sobre los dos tipos de comprimidos con Mitonafide, expresada como porcentaje del valor del parámetro considerado respecto al valor de tiempo inicial.

Respecto a la estabilidad física de los comprimidos con Mitonafide, en el ambiente de menor humedad relativa (45°C-45% H.R.) los comprimidos M-I son los más estables, destacando la no variación en la velocidad de disolución del principio activo. Sin embargo, cuando el ambiente es de elevada humedad relativa (45°C-75% H.R.) los comprimidos M-II son los que presentan mayor estabilidad, especialmente en el tiempo de disgregación, ya que la magnitud de su variación es enorme en los comprimidos M-I, si bien es verdad que, como ya se dijo, esta intensa variación porcentual de la disgregación de los comprimidos M-I no tiene apenas repercusiones prácticas y escasamente influye en la cinética de disolución de los mismos.

No se observan diferencias importantes entre los comprimidos M-I y M-II en cuanto a la intensificación de las variaciones físicas con el tiempo de almacenamiento.

Desde el punto de vista de la estabilidad química, en este estudio, sólo se detecta degradación durante el almacenamiento en los comprimido M-II. La intensidad de tal degradación es independiente de la humedad relativa de almacenamiento.

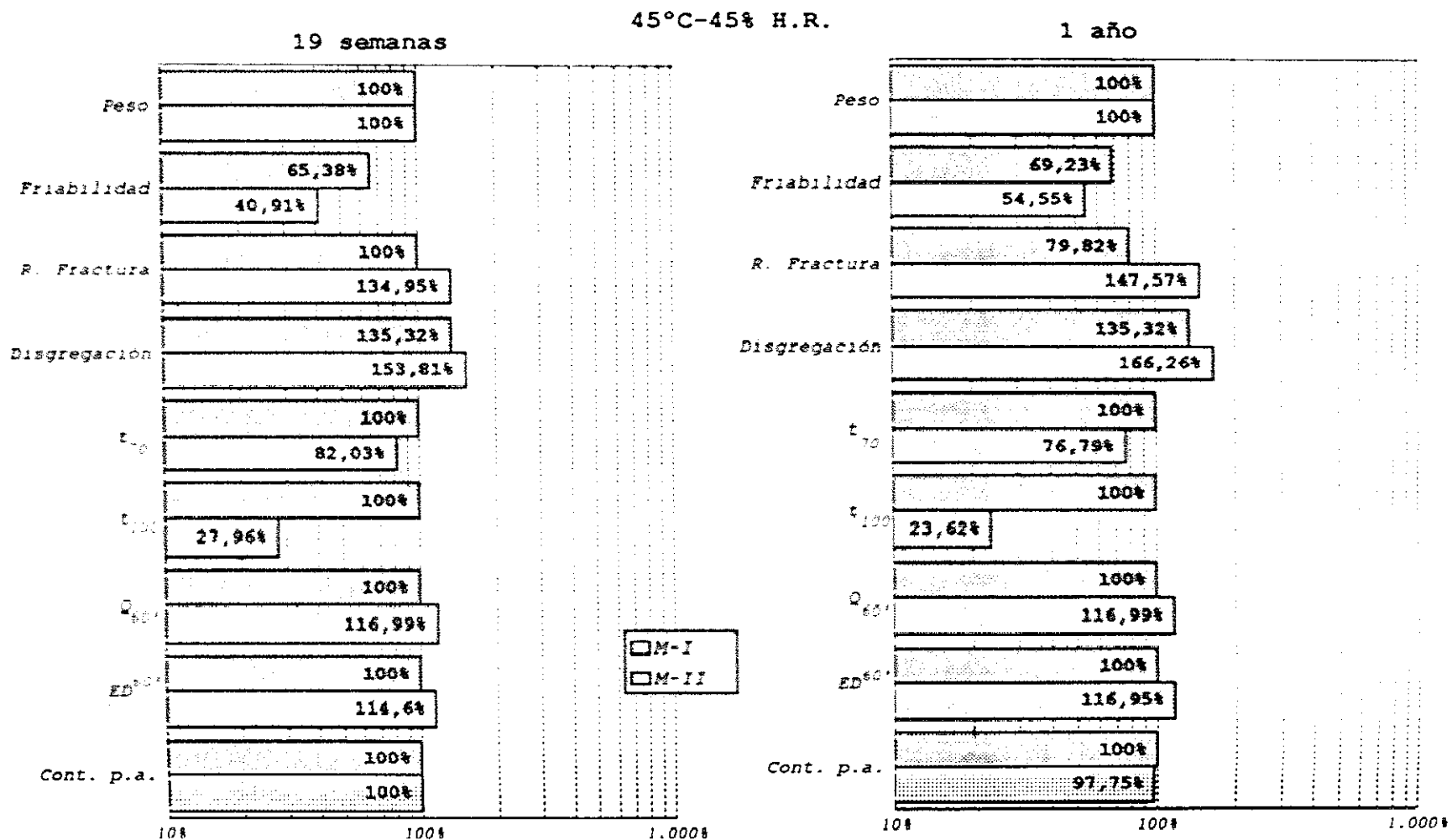


Figura 23. Intensidad de las variaciones detectadas en los comprimidos con Mitonafide (M-I y M-II), cuando se almacenan a 45°C-45% H.R.

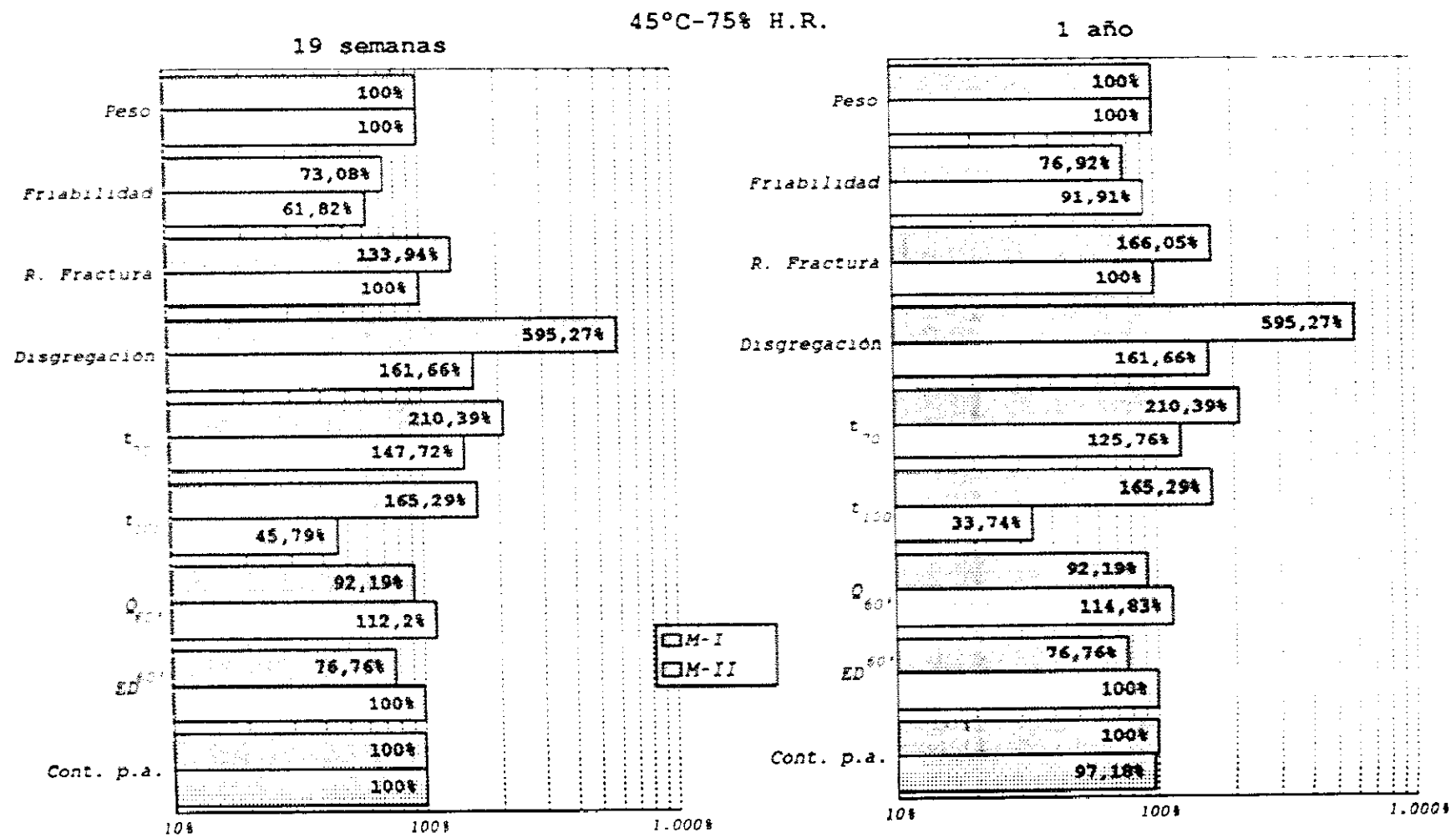


Figura 24. Intensidad de las variaciones detectadas en los comprimidos con Mitonafide (M-I y M-II), cuando se almacenan a 45°C-75% H.R.

COMPRIMIDOS CON AMONAFIDE.2HCl

La intensidad de las variaciones producidas con el envejecimiento acelerado por efecto de la humedad relativa ambiental sobre los tres tipos de comprimidos con Amonafide.2HCl, expresada como porcentaje del valor del parámetro considerado respecto al valor de tiempo inicial, se recoge en las figuras 25 y 26.

Respecto a la estabilidad física de los comprimidos con Amonafide.2HCl, no se puede señalar ninguno de los tipos estudiados como el más estable, ya que esta estabilidad depende de la característica analizada. Así, en cuanto al aspecto físico cabe destacar el hecho de que los A-II se oscurecen más cuanto mayor es el tiempo de almacenamiento y que, sin embargo, la humedad relativa ambiental es el factor que más condiciona el oscurecimiento de los comprimidos A-III. En los comprimidos A-I tanto el tiempo de exposición como la humedad relativa ambiental condicionan el oscurecimiento y/o cambio de color de los mismos.

En el ambiente de menor humedad relativa (45°C-45% H.R.) son también los comprimidos A-I los que presentan una mayor estabilidad en cuanto a la resistencia mecánica, mientras que su disgregación y su disolución se ven intensamente modificadas con el almacenamiento. La situación opuesta se observa en los comprimidos A-III.

Cuando el ambiente es de elevada humedad relativa (45°C-75% H.R.) los comprimidos A-I vuelven a ser los más estables desde el punto de vista de la resistencia mecánica. Sin embargo, los tres tipos de comprimidos son extraordinariamente inestables respecto a la disgregación y disolución.

El tiempo de almacenamiento influye de forma intensa en todas las características físicas de los 3 tipos de comprimidos, pero fundamentalmente en la disgregación, en la que esta influencia del tiempo de almacenamiento se observa principalmente en el ambiente de elevada humedad relativa (75%). Las variaciones en la resistencia mecánica con el

tiempo de almacenamiento son más acusadas en los comprimidos A-III, mientras que los menos afectados son los A-I. Los parámetros de disolución de los comprimidos A-I y A-III no se modifican con el tiempo de almacenamiento a elevada humedad relativa, pero, por el contrario sí sufren una llamativa alteración durante el almacenamiento a baja humedad relativa.

Los comprimidos A-II presentan, en general, un comportamiento intermedio entre los comprimidos A-I y A-III.

Desde el punto de vista de la estabilidad química, en este estudio, la humedad relativa ambiental tiene una importancia significativa. En el ambiente de menor humedad relativa (45°C-45% H.R.) los tres tipos de comprimidos se manifiestan muy estables, mientras que en el ambiente de mayor humedad relativa (45°C-75% H.R.) la estabilidad química es menor, aumentando la degradación en los tres tipos de comprimidos al aumentar el tiempo de almacenamiento.

Cuantificando esta degradación, los comprimidos A-II son los más estables.

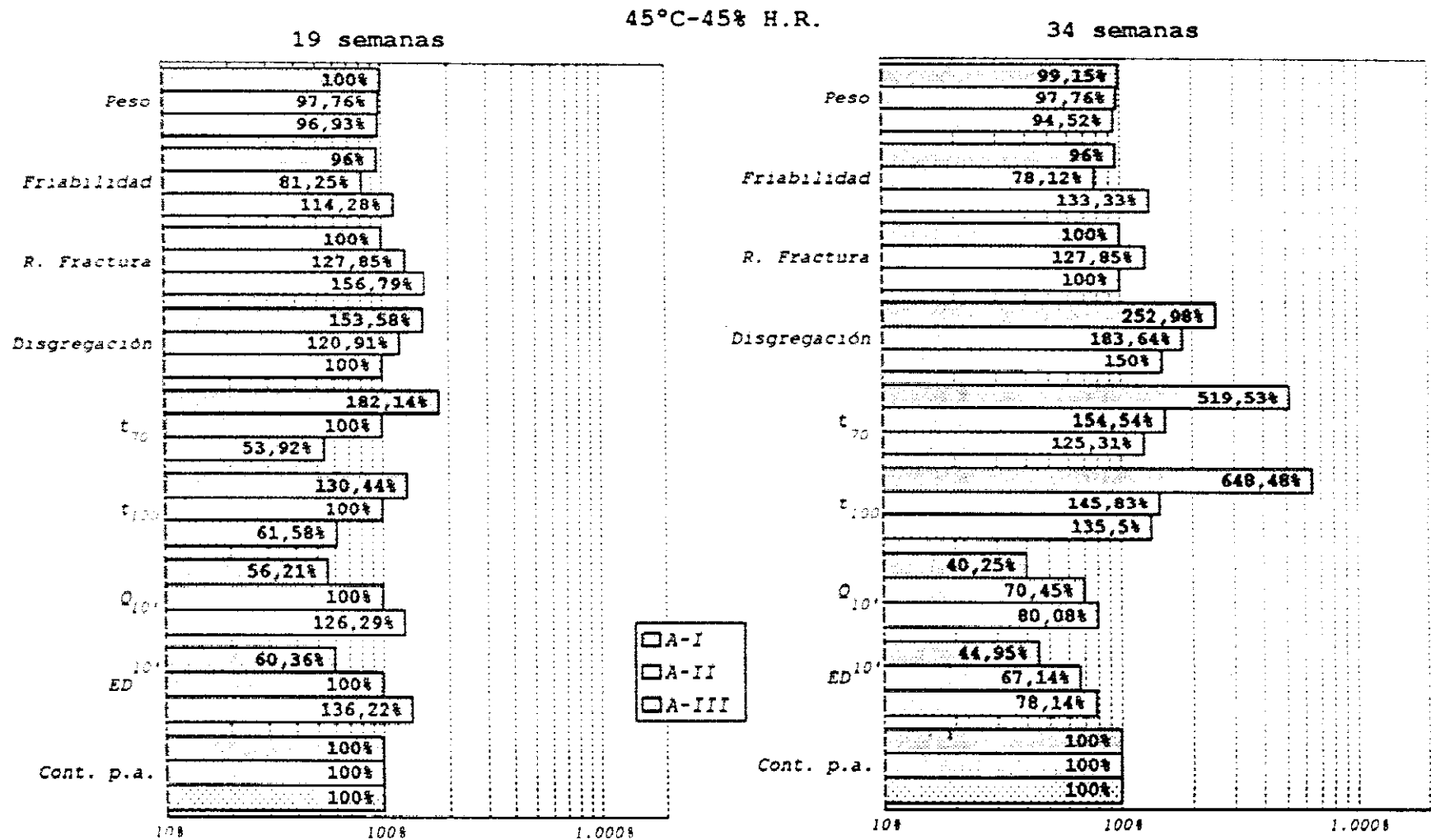


Figura 25. Intensidad de las variaciones detectadas en los comprimidos con Amonafide.2HCl (A-I, A-II y A-III), cuando se almacenan a 45°C-45% H.R.

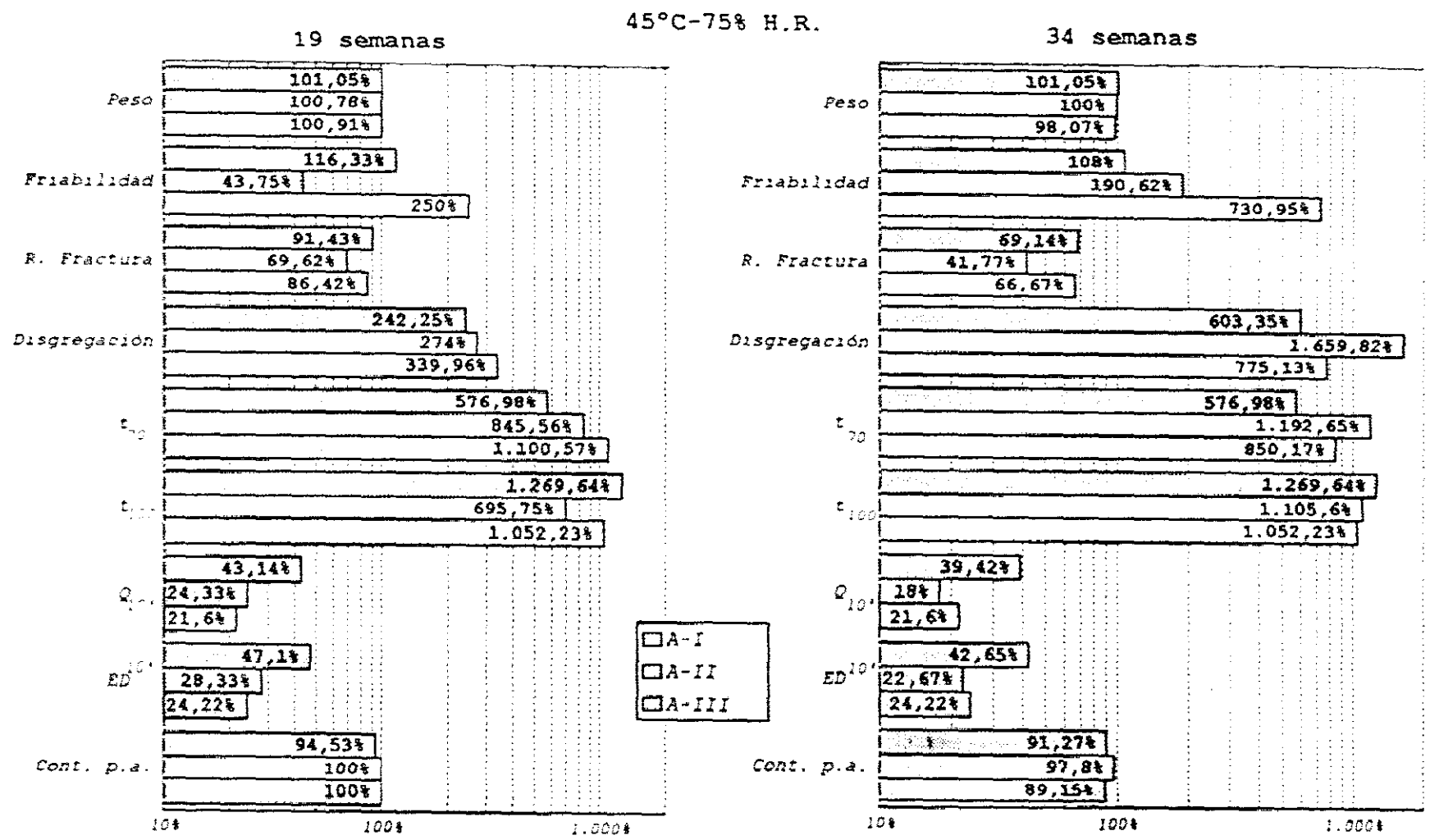


Figura 26. Intensidad de las variaciones detectadas en los comprimidos con Amonafide.2HCl (A-I, A-II y A-III), cuando se almacenan a 45°C-75% H.R.

5.3. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD.

Envejecimiento acelerado: Efecto de la temperatura.

5.3.1. METODO

5.3.1.1. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.

En este estudio de estabilidad isotérmico se emplean 4 temperaturas: 60, 70, 80 y 90°C.

Se programan 4 estufas de estabilidad a cada una de las temperaturas de trabajo. Los comprimidos de Mitonafide o de Amonafide.2HCl se colocan formando una sola capa en placas petri abiertas y se introducen en las estufas correctamente termostatzadas.

El número de unidades posológicas por tipo de comprimido es el necesario para realizar 11 muestreos.

La frecuencia de estos muestreos es de 6 semanas pero, por los resultados que se van obteniendo para los comprimidos con Mitonafide, sobre todo en la evaluación de la estabilidad química, se decide ampliar este periodo a 9 y a 15 semanas para los dos últimos muestreos, respectivamente. La duración total del estudio es, por tanto, de 78 semanas para los comprimidos con Mitonafide y de 66 semanas para los comprimidos con Amonafide.2HCl. Esta diferenciación está en concordancia con los resultados de los estudios de estabilidad sobre estos principios activos como tales materias primas frente a temperaturas elevadas.

Una vez comenzado el estudio de estabilidad se controla, periódicamente, la temperatura de las estufas. La máxima fluctuación detectada es de 12°C.

5.3.1.2. CARACTERIZACION DE LOS COMPRIMIDOS.

Las características físicas de los comprimidos se determinan empleando la misma metodología que cuando se caracterizan inicialmente. En el caso del peso y la disgregación de los comprimidos sólo se calculan el valor medio y su desviación estándar (31), y en el caso de la velocidad de disolución sólo se calculan el t70 y la eficacia de disolución.

Para realizar la caracterización química se emplea el mismo método analítico que con los comprimidos recientemente preparados.

Según los resultados obtenidos en la validación de este método analítico, se determina, de forma individualizada, el contenido en principio activo de al menos 4 comprimidos.

Se introduce una modificación en la preparación de las muestras analíticas para la cuantificación de Amonafide.2HCl en los comprimidos A-I, A-II y A-III. Al extraer el principio activo de estos comprimidos, los excipientes forman un precipitado que cambia de aspecto con el almacenamiento. Para garantizar que este precipitado no retiene principio activo, se mantienen estas muestras en agitación hasta que en dos lecturas consecutivas del contenido en principio activo del sobrenadante se obtienen valores iguales.

5.3.1.3. TRATAMIENTO DE DATOS.

5.3.1.3.1. Tratamiento de datos para el estudio de la estabilidad física.

En primer lugar, con el fin de determinar el efecto de las temperaturas elevadas sobre la estabilidad física de los comprimidos, se estudia, para cada tipo de comprimido, la evolución de cada una de las características físicas analizadas con el tiempo de exposición, a cada una de las cuatro temperaturas de almacenamiento utilizadas.

En segundo lugar, con el fin de poder comparar los distintos tipos de comprimidos entre sí, se toman, para cada temperatura de almacenamiento, los resultados obtenidos en el último muestreo (78 semanas de almacenamiento para los comprimidos con Mitonafide, 66 semanas para los de Amonafide.2HCl) y se determina si, con el almacenamiento, ha habido modificación estadísticamente significativa de cada una de las características analizadas. En caso afirmativo se cuantifica la misma. Para ello, se procede de la misma forma que en el

estudio del efecto de la humedad relativa ambiental. Esto es:

1º.- Se aplica el test de Kolmogorov-Smirnov sobre los datos experimentales del último tiempo de muestreo a cada temperatura de almacenamiento, para ver si las variables analizadas siguen una distribución normal o de Gauss.

2º.- Se comparan los valores obtenidos de cada variable con los correspondientes a tiempo inicial, antes del envejecimiento, mediante el test estadístico adecuado de comparación de dos medias:

* Test de Mann-Whitney, si los datos no se ajustan a una distribución normal.

* Test t-Student, si los datos se ajustan a una distribución normal, teniendo en cuenta además si las varianzas de ambas muestras son homogéneas o no (test F-Snedecor).

3º.- Si se detectan diferencias estadísticamente significativas se cuantifican mediante el cálculo de la relación entre los valores de estas propiedades después del almacenamiento y sus valores iniciales, expresada en porcentaje (17).

Quedan excluidos de este tratamiento los valores de friabilidad por generarse de una única determinación experimental.

5.3.1.3.2. Tratamiento de datos para el estudio de la estabilidad química.

En primer lugar, con el fin de determinar el efecto de las temperaturas elevadas sobre la estabilidad química de los comprimidos, se determina, para cada tipo de comprimido, el modelo cinético de la posible reacción de degradación del principio activo a cada una de las cuatro temperaturas de almacenamiento utilizadas.

En segundo lugar, con el fin de poder decidir qué tipo de comprimido presenta mayor estabilidad química, se pretende aplicar la ecuación de Arrhenius para obtener la constante de degradación del principio activo a 22°C (temperatura ambiente del estudio de envejecimiento natural) " $k_{22^\circ\text{C}}$ ". Los distintos tipos de comprimidos se

comparan entre sí a través del valor de esta constante k_{27} . En el caso de que resulte imposible su determinación: bien porque no se detecte degradación estadísticamente significativa del principio activo en los comprimidos en más de una de las temperaturas de trabajo, bien porque, aunque se detecte degradación, no se pueda aplicar la ecuación de Arrhenius, se procede al cálculo, para cada temperatura, del porcentaje de principio activo remanente al final del estudio " $Q_1(\%)$ ", con el único fin de poder comparar los distintos tipos de comprimidos en cuanto a su estabilidad química.

De forma esquemática, el procedimiento a seguir, en cada tipo de comprimido, para alcanzar estos dos fines es el siguiente:

1º.- Identificación del orden de la reacción de degradación a cada temperatura.

Como, en general, las formas de dosificación sólidas se descomponen según cinéticas de orden cero o de primer orden (129), se ajustan, para cada temperatura de trabajo, las cantidades de principio activo obtenidas en los distintos tiempos de muestreo a las siguientes ecuaciones:

$$Q_t = Q_0 - kt \quad (\text{orden cero})$$

$$Q_t = Q_0 e^{-kt} \quad (\text{orden uno})$$

donde: Q_t es la cantidad remanente de principio activo a los distintos tiempos de almacenamiento,

Q_0 es la cantidad inicial de principio activo,

k es la constante de la velocidad de la reacción,

t es el tiempo.

Se calculan el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación de la cantidad remanente de principio activo frente al tiempo y se evalúa el grado de significación de los valores de coeficiente de correlación obtenidos para cada caso.

Si no existe correlación estadísticamente significativa entre el tiempo de almacenamiento y la cantidad remanente de principio activo,

se da por finalizado el tratamiento estadístico de los datos. En este caso, se consideran la pendiente de la recta de correlación o valor de k para esa temperatura igual a cero y el porcentaje remanente de principio activo al finalizar el estudio, $Q(\%)$, a esa temperatura igual al 100%.

Si existe correlación estadísticamente significativa se procede a la identificación del orden de la reacción de degradación. Para ello, se ajustan los datos experimentales a los dos modelos propuestos, mediante regresión lineal ponderada para la cinética de orden cero y mediante regresión no lineal ponderada para la cinética de orden uno. Se comparan las varianzas obtenidas con ambos ajustes mediante un test F-Snedecor.

Si existen diferencias significativas entre las dos varianzas se selecciona el modelo cinético cuya varianza sea menor. Se evalúa la bondad de este ajuste, mediante un ANOVA de la correlación lineal para orden cero o mediante un test χ^2 para orden uno (130).

Si no existen diferencias significativas entre las dos varianzas se evalúa la bondad del ajuste de los dos modelos.

Si ambos órdenes de reacción no se diferencian estadísticamente se toma, en principio, el modelo cinético más sencillo: orden cero (99). Ahora bien, como el fin último de este tratamiento matemático es poder aplicar la ecuación de Arrhenius para calcular k_{25° , interesa que las cinéticas de degradación de las temperaturas empleadas sean del mismo orden. Por ello, si se da este caso de igualdad, a la hora de seleccionar uno u otro orden para una temperatura dada, se debe tener en cuenta el orden seleccionado en las demás temperaturas.

22.- Cálculo de los parámetros de la ecuación que define la cinética de degradación a cada temperatura.

De esta forma, se obtienen los valores de las constantes de velocidad degradación (k) a cada temperatura, que permiten determinar el efecto de las temperaturas elevadas sobre la estabilidad química de los distintos tipos de comprimidos.

3º.- Aplicación de la ecuación de Arrhenius.

Mediante la ecuación de Arrhenius, se establece la relación entre la constante de la velocidad de degradación y la inversa de la temperatura absoluta de almacenamiento:

$$k = A e^{-E/RT}$$

siendo: k la constante de la velocidad de reacción a la temperatura T,

A el factor de frecuencia o frecuencia total de encuentros entre dos moléculas reaccionantes,

E la energía de activación (cal/mol),

R la constante universal de los gases ($R=1,987$ cal/mol $^{\circ}$ K),

T la temperatura de almacenamiento ($^{\circ}$ K).

Se evalúa, en primer lugar, si existe o no correlación entre las dos variables (constante de la velocidad de reacción, k, frente a la inversa de la temperatura absoluta, 1/T).

En caso negativo, se da por finalizado el tratamiento matemático: no se puede aplicar la ecuación de Arrhenius y se calcula para cada temperatura el porcentaje de principio activo remanente al final del estudio, Q(%), utilizando las ecuaciones cinéticas definidas en el apartado anterior.

En caso positivo, se determina la bondad del ajuste de la regresión no lineal ponderada, mediante el test χ^2 .

Si el ajuste es bueno, se calculan los parámetros de la ecuación de Arrhenius con sus desviaciones, es decir, se obtienen los valores de la energía de activación y del factor de frecuencia, característicos del principio activo incluido en un comprimido dado.

4º.- Extrapolación de la constante de velocidad de reacción a 22°C.

Aplicando la ecuación de Arrhenius obtenida para cada tipo de comprimido se extrapola el valor de constante de velocidad de degradación a temperatura ambiente: $K_{22^{\circ}\text{C}}$.

Los comprimidos se comparan a través de estos valores de $K_{22^{\circ}\text{C}}$ calculados.

5.3.2. RESULTADOS

COMPRESIONADOS DE MITONAFIDE

Las variaciones en el aspecto físico de los comprimidos producidas durante el almacenamiento se pueden observar a partir de las muestras que aparecen en la fotografía de la figura 27.

Los datos resultantes en la determinación de las características físicas: dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura, disgregación y velocidad de disolución (t_{70} y ED^{60}) expresados a través de su valor medio y su coeficiente de variación, cuando es posible, están recogidos en las tablas LXXVII y LXXVIII en el caso de los comprimidos M-I y en las tablas LXXXIV y LXXXV para los comprimidos M-II. En estas tablas se han incluido, para facilitar su análisis, los valores medios obtenidos para todas estas características físicas en la caracterización inicial de los dos tipos de comprimidos. Estos parámetros estadísticos se representan frente al tiempo de almacenamiento para cada una de las temperaturas en las figuras 28, 29 y 30 para los comprimidos M-I y en las figuras 34, 35 y 36 para los M-II.

Los resultados estadísticos obtenidos en la comparación de los valores de las características físicas correspondientes al último muestreo con los valores iniciales están plasmados en las tablas LXXIX y LXXXVI para los comprimidos M-I y M-II. Este tratamiento estadístico no se ha aplicado a los datos de las dimensiones de los comprimidos porque resulta evidente que no difieren significativamente de los valores iniciales.

El contenido medio en principio activo de los comprimidos M-I y M-II, para cada tiempo de muestreo y cada temperatura de almacenamiento, se muestra en las tablas LXXX y LXXXVII. En las figuras 31 y 37 se reproducen los cromatogramas obtenidos en el análisis cuantitativo de Mitonafide en los comprimidos M-I y M-II después de 78 semanas de almacenamiento a los 60, 70, 80 ó 90°C.

Los resultados obtenidos en la identificación del orden de la cinética de degradación a cada temperatura están recogidos en las tablas LXXXI y LXXXVIII para los comprimidos M-I y M-II.

Los parámetros de la ecuación del modelo cinético seleccionado para cada temperatura y sus desviaciones están plasmados en las tablas LXXXII y LXXXIX, según se trate de los comprimidos M-I y M-II, respectivamente. Estas cinéticas de degradación se representan gráficamente en las figuras 32 y 38.

La representación gráfica de los valores de las constantes de degradación frente a la inversa de la temperatura absoluta se muestra en las figuras 33 y 39 para los comprimidos M-I y M-II. Los resultados obtenidos al aplicar la ecuación de Arrhenius a los comprimidos M-I se encuentran en la tabla LXXXIII. Al no poderse realizar este ajuste en ninguno de los dos tipos de comprimidos con Mitonafide, se incluye en las tablas LXXXIII y LXXXIX el valor del porcentaje de principio activo remanente a las 78 semanas de almacenamiento. Este parámetro se utiliza para comparar la estabilidad química del Mitonafide en los dos tipos de comprimidos.

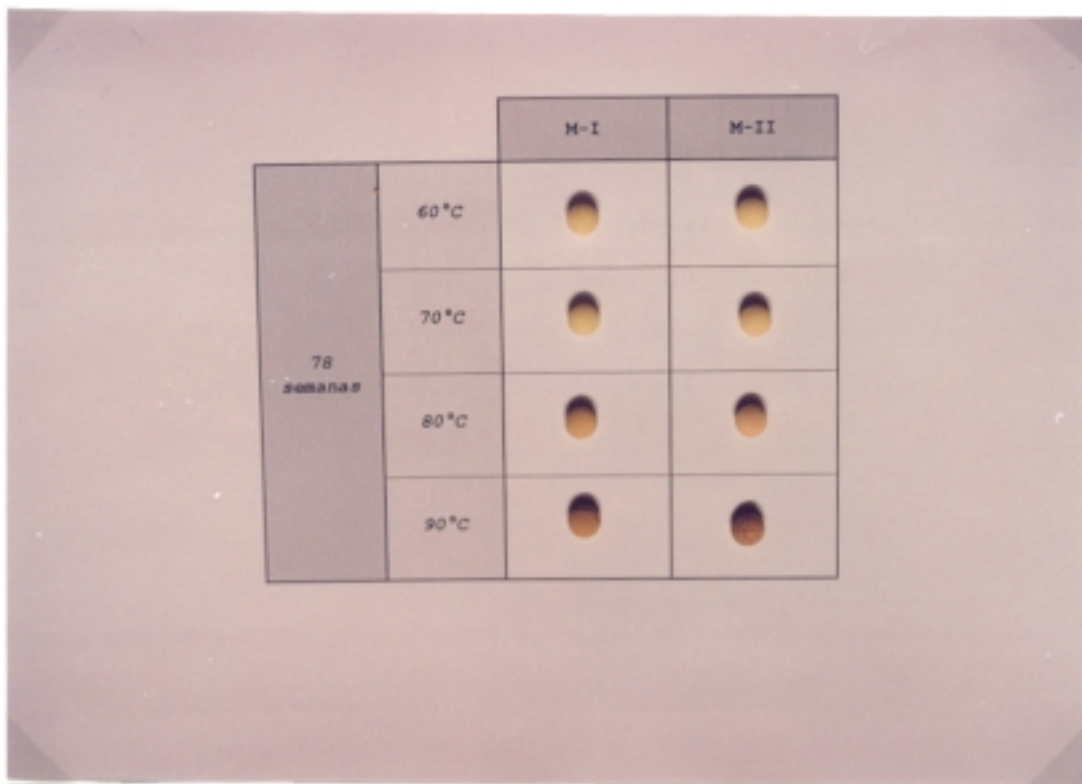


Figura 27. Aspecto físico de los comprimidos con Mitonafide (M-I y M-II) tras 78 semanas de almacenamiento isotérmico a 60, 70, 80 ó 90°C.

COMPRIMIDOS M-I

Estabilidad física.

El aspecto físico de los comprimidos M-I se va deteriorando con el almacenamiento. Este deterioro es más acusado al aumentar el tiempo y la temperatura ambiente (figura 27).

Los signos más evidentes son: presencia de moteado en la superficie de los comprimidos, oscurecimiento, especialmente a las temperaturas más elevadas, y aspecto pulverulento de la superficie. En las condiciones más drásticas de almacenamiento, las aristas de los comprimidos se redondean.

El oscurecimiento puede ser debido, entre otras cosas, a que el Ludipress, excipiente mayoritario de los comprimidos M-I, contiene un 93,4% de lactosa que adquiere una coloración marrón durante el almacenamiento (131).

Las dimensiones de los comprimidos no sufren modificaciones significativas con el almacenamiento (tabla LXXVII y figura 28), aunque la determinación de la altura menor del comprimido "c" se hace muy difícil.

El peso de los comprimidos disminuye con el almacenamiento y con distinta intensidad según la temperatura ambiente, de manera que la influencia más marcada es la del almacenamiento a 90°C. A pesar de esta evolución, la pérdida total de peso en la condición más desfavorable es, sólo, del 2% aproximadamente (tabla LXXVII y figura 29).

La pequeña variación del peso con el almacenamiento de estos comprimidos se puede justificar si se tiene en cuenta que un 96%, aproximadamente, de su composición está constituido por sustancias no higroscópicas. La mayor pérdida de peso detectada a 90°C, puede ser debida a la erosión observada en los comprimidos, ya comentada.

La friabilidad de los comprimidos (tabla LXXVII y figura 29) es

menor, igual o mayor que la inicial según la temperatura y el tiempo de exposición considerados. Así, se observa una ligera disminución en las primeras semanas de almacenamiento, más intensa a 90°C, y luego, un aumento, sin que se superen los valores iniciales a 60 y 70°C y superando extensamente los valores iniciales a 80 y 90°C.

Llama la atención que desde las 30 semanas a las 54 semanas de almacenamiento los mayores valores de friabilidad proceden de los comprimidos almacenados a 80°C y sólo en los dos últimos tiempos de muestreo los valores de friabilidad obtenidos a 90°C superan a los de 80°C.

La resistencia a la fractura de los comprimidos, en general, no varía con el almacenamiento a 80°C, disminuye ligeramente a 60 y 70°C y, a 90°C, tras un ligero aumento durante las 12 primeras semanas de exposición, disminuye drásticamente: de las 18 a las 78 semanas de almacenamiento, la resistencia a la fractura disminuye en un 87,16% (tabla LXXVIII y figura 29).

Según lo expuesto, cuando la temperatura de almacenamiento es de 90°C, existe paralelismo entre el aumento de la resistencia a la fractura y la disminución en la friabilidad de los comprimidos durante las 12 primeras semanas de exposición. Luego, disminuye la resistencia a la fractura sin un aumento notable de la friabilidad hasta las 54 semanas, tal vez porque, como ya se ha dicho al hablar del aspecto físico de estos comprimidos, el aumento de la friabilidad es tan intenso a esta temperatura que los comprimidos pierden las aristas sin necesidad de someterlos a ninguna fricción y, por tanto, este aumento de friabilidad no se detecta mecánicamente.

Esta inestabilidad de la resistencia mecánica de los comprimidos cuando se almacenan a 90°C puede explicarse si se tiene en cuenta que la estabilidad de la lactosa (excipiente mayoritario) disminuye drásticamente a temperaturas superiores a 90°C (127).

Respecto al tiempo de disgregación, se puede decir que sólo varía con el tiempo de almacenamiento cuando los comprimidos se someten a

80°C, que aumenta, y cuando los comprimidos se someten a 90°C, que disminuye (tabla LXXVIII y figura 30). El aumento en el tiempo de disgregación a 80°C se detecta a partir de las 48 semanas de almacenamiento: se llegan a obtener, al final del estudio (78 semanas), valores un 61,19% superiores al valor inicial. La disminución en el tiempo de disgregación a 90°C se detecta a partir de las 30 semanas: los valores obtenidos comienzan a disminuir pasando a ser, a las 78 semanas, un 77,11% menores que el inicial.

El aumento del tiempo de disgregación de los comprimidos M-I cuando se almacenan a 80°C puede ser consecuencia de la posible inestabilidad del Explotab (agente disgregante mayoritario), dada su naturaleza química (almidón modificado o carboximetil almidón).

A los 90°C ocurre lo contrario, porque los comprimidos sufren tal ablandamiento que se desmoronan en contacto con el medio de disgregación.

La velocidad de disolución, aunque es menor que inicialmente a las 6 semanas de almacenamiento a 80 y 90°C, en general no se modifica o aumenta con el tiempo de exposición, como ponen de manifiesto los dos parámetros de disolución estudiados (tabla LXXVIII y figura 30). A 90°C se detecta el aumento de la velocidad de disolución más marcado.

El aumento en la velocidad de disolución a partir de las 30 semanas de almacenamiento a 90°C se puede justificar por la disminución detectada, a partir de ese mismo muestreo, en el tiempo de disgregación.

Para resaltar la influencia de las distintas temperaturas de trabajo en cada una de las características físicas de los comprimidos M-I, en la tabla LXXIX se recogen los resultados obtenidos al comparar los valores del último muestreo con los iniciales.

Como se observa en esta tabla, existe una influencia muy marcada del almacenamiento de los comprimidos a 90°C sobre todas las características físicas analizadas. El efecto de las demás temperaturas es escaso. Sólo destacan la ligera disminución de la resistencia a la

fractura a 60 y 70°C y el aumento del tiempo de disgregación a 80°C.

Estas diferencias entre 90°C y las demás temperaturas estudiadas quizás sean debidas a que la lactosa, excipiente mayoritario de estos comprimidos, presenta una gran estabilidad cuando la temperatura ambiente es menor a 90°C.

Estabilidad química.

Respecto a la estabilidad química de los comprimidos M-I, el contenido en Mitonafide disminuye con el tiempo de almacenamiento, según se desprende de los datos de la tabla LXXX. Esta disminución queda también patente en los cromatogramas correspondientes al último tiempo de muestreo (figura 31). Estadísticamente se comprueba que, en efecto, existe correlación entre la cantidad remanente de Mitonafide y el tiempo de almacenamiento en todas las temperaturas empleadas en el estudio (tabla LXXXI).

La correlación más alta entre ambas variables se presenta a 90°C, donde un 98,7% de la variación en la cantidad remanente de principio activo es explicada por la variación en el tiempo de almacenamiento.

No se detectan diferencias significativas entre las varianzas obtenidas al ajustar los datos experimentales a una cinética de orden cero y de orden uno y, puesto que la bondad del ajuste a ambos modelos es, estadísticamente aceptable, se concluye que desde el punto de vista estadístico no se puede discernir cuál es el modelo al que mejor se ajustan los datos experimentales para ninguna de las cuatro temperaturas de trabajo. En este caso, se selecciona el orden cero para todas las temperaturas por ser el modelo más sencillo.

Suponiendo, pues, una cinética de degradación de orden cero, se calculan los parámetros de la recta recogidos en la tabla LXXXII. Como puede observarse, los valores de constante de velocidad de degradación obtenidos son mayores cuanto mayor es la temperatura de almacenamiento, aunque destaca el valor obtenido a los 90°C frente a los obtenidos a las demás temperaturas. Esta distinta velocidad de degradación del

Mitonafide, según la temperatura, también se puede apreciar claramente a partir de la representación de la figura 32, donde se recogen los perfiles de degradación del Mitonafide para cada temperatura.

En la tabla LXXXIII aparecen los resultados del ajuste de la ecuación de Arrhenius. No se detecta correlación significativa entre estas variables. El valor de coeficiente de determinación es de 0,758. Al representar gráficamente los valores de constante de velocidad de degradación frente a la inversa de la temperatura absoluta (figura 33) se puede observar esta falta de correlación y que es el valor de k a 90°C el que, al ser muy elevado, no permite una buena correlación.

Esta diferencia entre las temperaturas de almacenamiento es tal que, al finalizar el estudio (78 semanas), la degradación del Mitonafide incluido en estos comprimidos M-I es mayor del 10% a 90°C y no supera el 4% en los demás ambientes (tabla LXXXIII).

Tabla LXXVII: Dimensiones, peso y friabilidad de los comprimidos M-I: valores medios y coeficientes de variación, excepto para la friabilidad.

	60° C		70° C		80° C		90° C	
DIMENSIONES: a (cm)								
Semanas	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.
0	0,705	0,001	0,705	0,001	0,705	0,001	0,705	0,001
6	0,705	0,001	0,705	0,001	0,706	0,321	0,706	0,321
18	0,704	0,321	0,707	0,391	0,705	0,501	0,704	0,321
30	0,706	0,321	0,705	0,001	0,705	0,001	0,705	0,501
48	0,705	0,001	0,704	0,321	0,706	0,321	0,705	0,001
78	0,706	0,321	0,705	0,001	0,705	0,501	0,705	0,001
DIMENSIONES: b (cm)								
Semanas	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.
0	0,467	0,611	0,467	0,641	0,467	0,641	0,467	0,641
6	0,467	0,591	0,465	0,761	0,468	0,591	0,469	0,891
18	0,468	0,961	0,466	0,481	0,466	0,901	0,466	0,481
30	0,466	0,901	0,468	0,961	0,467	0,591	0,465	1,081
48	0,465	0,761	0,468	0,591	0,467	0,591	0,468	0,961
78	0,467	0,591	0,467	0,591	0,465	0,761	0,466	0,481
DIMENSIONES: c (cm)								
Semanas	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.
0	0,204	0,981	0,204	0,981	0,204	0,981	0,204	0,981
6	0,205	1,721	0,204	1,101	0,202	1,361	0,204	1,101
18	0,201	2,081	0,203	1,351	0,203	1,351	0,205	1,721
30	0,204	2,051	0,202	1,361	0,201	2,081	0,204	2,051
48	0,206	1,091	0,204	2,031	0,203	1,351	0,204	1,101
78	0,202	1,361	0,203	1,351	0,204	1,101	0,205	1,721
PESO (mg)								
Semanas	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.
0	172,35	0,601	172,35	0,601	172,35	0,601	172,35	0,601
6	172,48	0,601	172,32	0,561	172,17	0,411	172,10	0,571
12	172,57	0,531	172,22	0,441	172,07	0,351	172,04	0,621
18	172,41	0,561	172,55	0,471	172,35	0,411	171,93	0,401
24	172,56	0,451	172,53	0,491	172,05	0,461	171,70	0,461
30	172,07	0,571	172,08	0,411	171,86	0,351	171,40	0,531
36	172,10	0,371	172,08	0,351	171,67	0,561	171,05	0,541
42	172,15	0,451	172,16	0,511	171,55	0,511	170,48	0,531
48	172,12	0,541	172,02	0,531	171,39	0,431	170,74	0,651
54	172,27	0,551	171,97	0,411	171,71	0,601	170,23	0,461
63	171,70	0,551	171,31	0,681	170,99	0,671	169,74	0,881
78	171,73	0,461	171,74	0,731	170,97	0,581	169,24	1,041
FRIABILIDAD								
Semanas	X		X		X		X	
0	0,261		0,261		0,261		0,261	
6	0,181		0,201		0,201		0,151	
12	0,171		0,181		0,221		0,131	
18	0,191		0,221		0,231		0,201	
24	0,201		0,261		0,301		0,301	
30	0,201		0,221		0,361		0,211	
36	0,221		0,231		0,341		0,211	
42	0,241		0,201		0,381		0,201	
48	0,271		0,201		0,401		0,251	
54	0,291		0,271		0,411		0,311	
63	0,281		0,251		0,461		0,511	
78	0,261		0,231		0,531		0,701	

Tabla LXXVIII: Resistencia a la fractura, tiempo de disgregación y velocidad de disolución (t_{70} y ED^{60}) de los comprimidos M-I: valores medios y coeficiente de variación.

	60° C		70° C		80° C		90° C	
RESISTENCIA A LA FRACTURA (Kg Krwaka)								
Semanas	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.
0	5,45	8,26%	5,45	8,26%	5,45	8,26%	5,45	8,26%
6	5,45	3,84%	5,35	8,49%	5,45	6,80%	5,65	6,71%
12	5,60	9,26%	5,20	6,27%	5,50	5,57%	5,90	8,79%
18	5,65	5,04%	4,80	6,79%	5,60	5,09%	5,05	6,45%
24	4,50	11,11%	4,90	5,82%	4,85	2,82%	3,90	7,31%
30	4,90	5,82%	4,35	4,86%	4,60	9,87%	3,55	5,89%
36	4,80	10,02%	4,90	6,85%	4,90	5,82%	2,95	13,93%
42	4,80	5,70%	4,90	5,82%	4,85	4,61%	2,60	5,27%
48	4,40	8,62%	4,05	5,16%	4,65	10,48%	2,05	5,45%
54	4,75	5,26%	4,50	11,11%	5,10	5,59%	1,60	13,97%
63	4,75	7,44%	4,65	6,13%	5,15	5,53%	1,10	12,45%
78	4,80	6,79%	4,60	6,20%	5,25	6,73%	0,70	15,97%
DISGREGACION (min)								
Semanas	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.
0	2,01	24,88%	2,01	24,88%	2,01	24,88%	2,01	24,88%
6	2,25	6,17%	2,37	9,31%	2,21	6,70%	2,35	7,79%
12	2,19	12,52%	2,26	7,42%	2,17	11,38%	2,19	12,76%
18	2,07	7,86%	2,07	10,69%	2,22	10,66%	2,05	9,16%
24	2,10	11,54%	2,29	15,15%	1,96	12,15%	1,79	8,33%
30	1,90	15,31%	1,94	12,78%	2,15	12,74%	1,67	9,43%
36	2,08	12,74%	2,20	13,24%	2,19	9,78%	1,38	12,23%
42	2,16	16,32%	2,32	14,91%	2,59	7,87%	1,36	7,99%
48	2,31	14,92%	2,16	8,82%	2,17	14,05%	1,12	3,78%
54	2,06	9,64%	2,02	16,17%	3,04	8,30%	0,89	18,86%
63	2,08	9,43%	2,51	9,63%	3,20	11,15%	0,80	11,27%
78	2,09	4,32%	2,49	11,89%	3,30	9,38%	0,46	23,67%
t_{70} (min)								
Semanas	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.
0	14,59	2,14%	14,59	2,14%	14,59	2,14%	14,59	2,14%
6	14,59	5,27%	17,55	5,34%	17,67	5,35%	14,66	5,68%
12	-	-	-	-	-	-	15,29	2,80%
18	14,37	3,75%	14,65	6,47%	15,98	6,91%	14,75	5,90%
30	14,15	7,56%	18,01	3,44%	11,55	3,11%	15,07	4,51%
48	14,31	3,52%	14,15	5,25%	12,65	5,62%	16,35	6,09%
78	13,89	6,59%	13,37	2,92%	14,00	7,69%	7,60	5,00%
E.D. 60' (%)								
Semanas	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.	\bar{X}	a.v.
0	78,80	0,61%	78,80	0,61%	78,80	0,61%	78,80	0,61%
6	78,19	1,01%	76,53	1,78%	76,47	1,70%	75,74	1,98%
12	-	-	-	-	-	-	80,83	0,58%
18	79,03	1,78%	78,49	1,51%	78,50	1,56%	79,41	1,47%
30	79,56	1,52%	80,12	0,51%	81,58	0,55%	79,20	1,68%
48	80,21	0,67%	80,47	0,97%	81,36	1,59%	83,82	1,69%
78	80,56	1,38%	81,20	0,46%	79,69	0,83%	87,44	1,37%

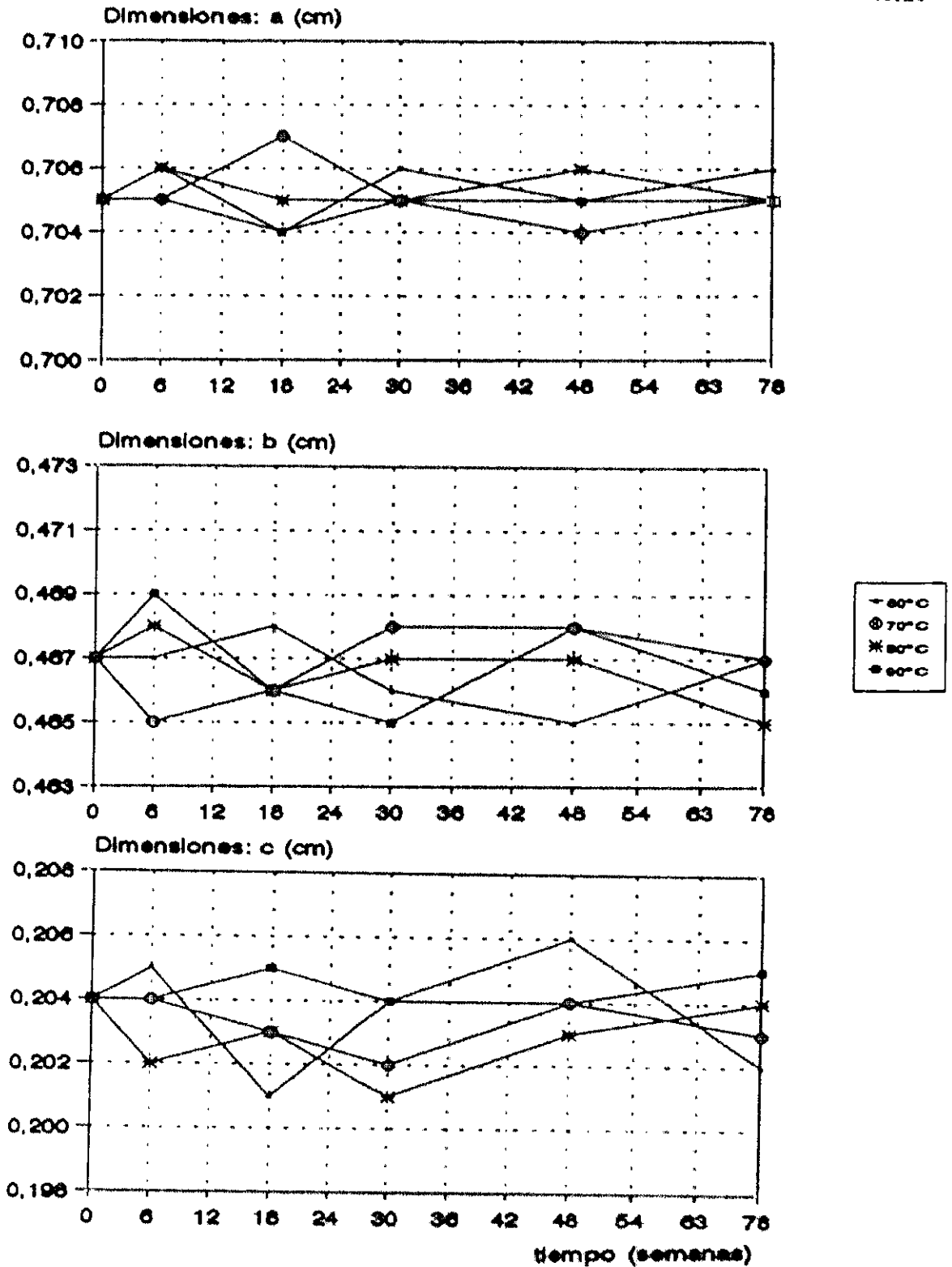


Figura 28. Representación gráfica de los valores de las dimensiones de los comprimidos M-I frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

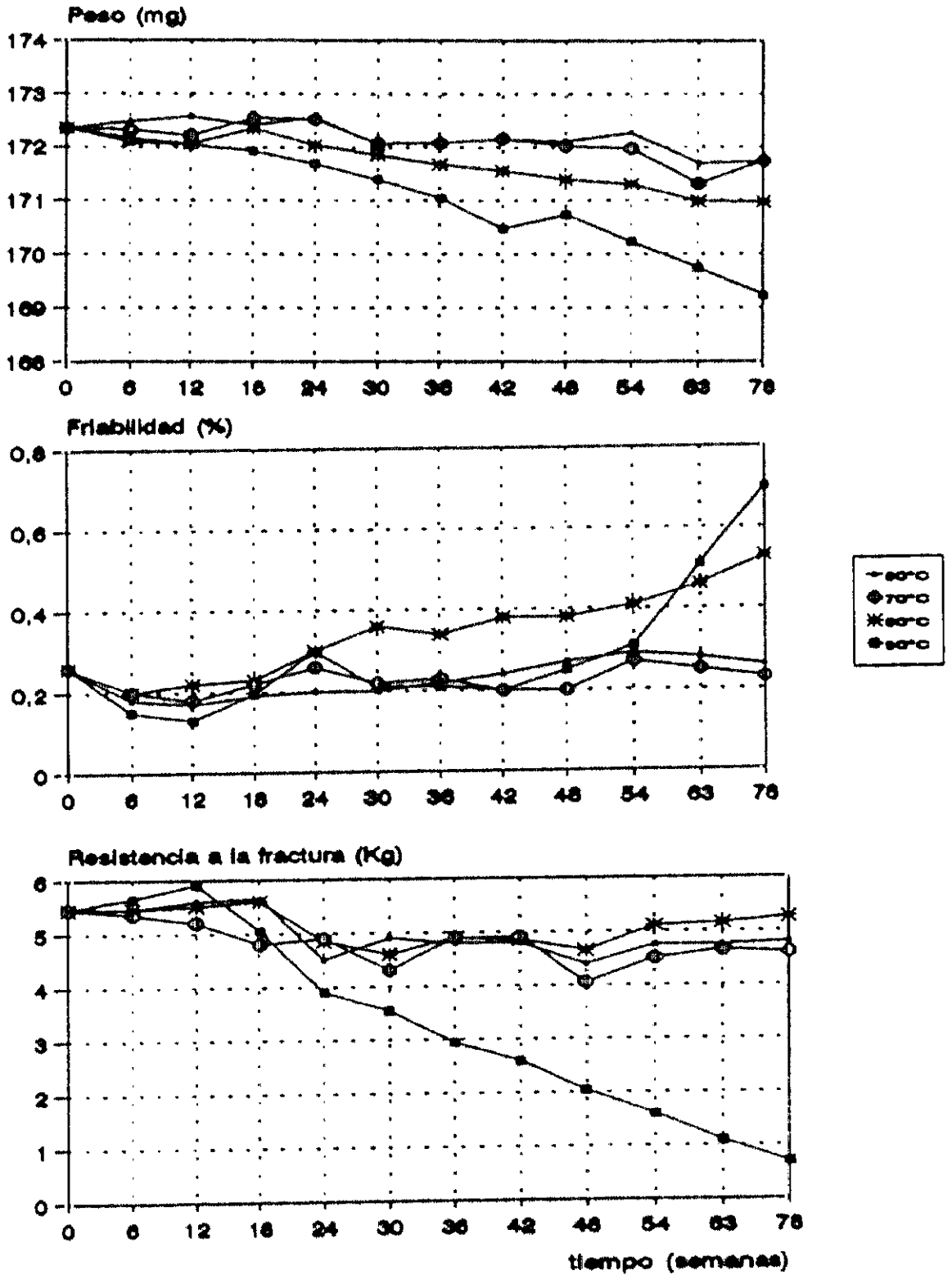


Figura 29. Representación gráfica de los valores de peso, friabilidad y resistencia a la fractura de los comprimidos M-I frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

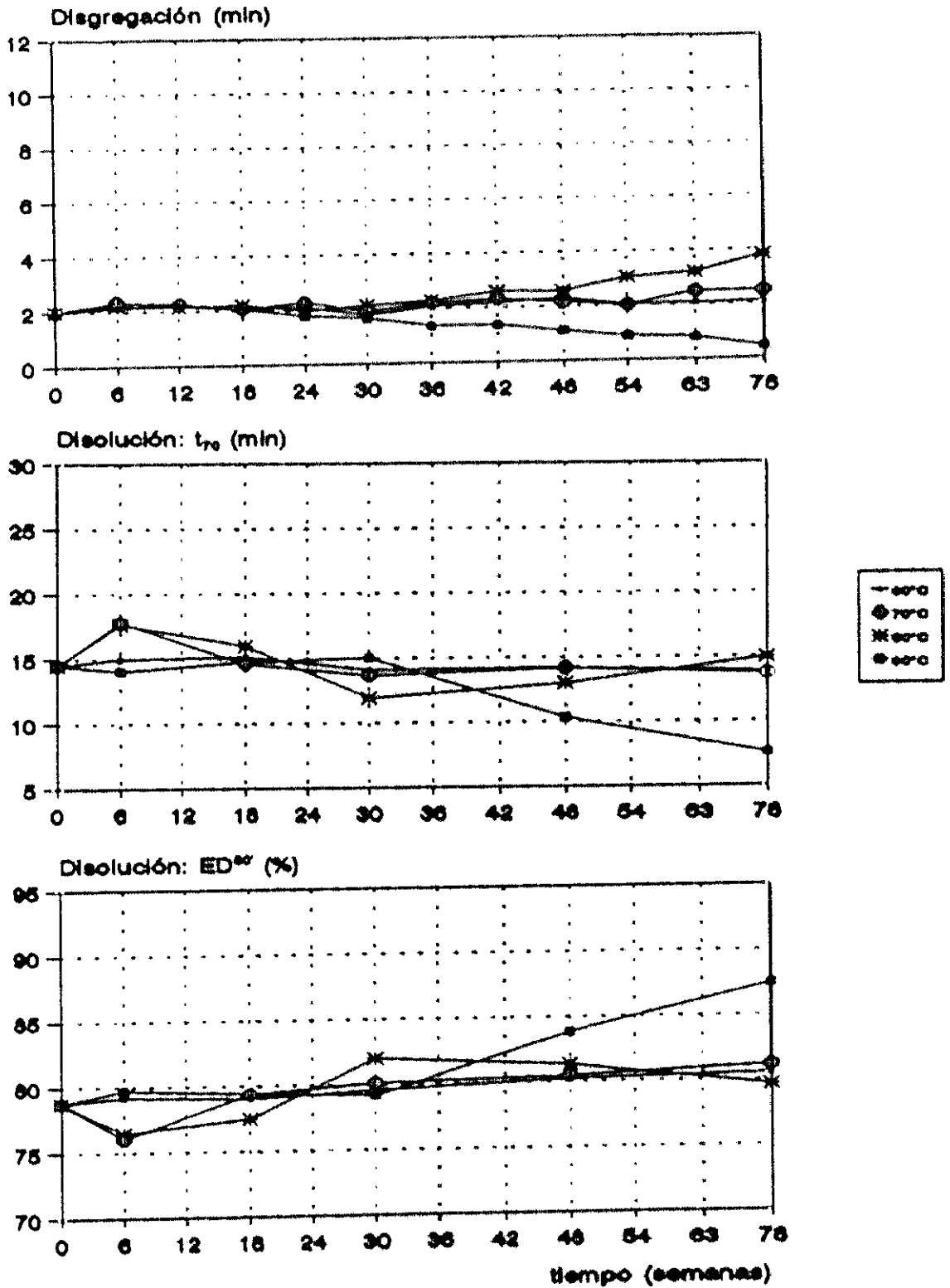


Figura 30. Representación gráfica de los valores de tiempo de disgregación, t_{70} y ED^{60} de los comprimidos M-I frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

Tabla LXXIX: Resultados estadísticos obtenidos en la comparación de los valores de las características físicas de los comprimidos M-I correspondientes al último muestreo con los valores iniciales de las mismas.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	t respecto inicial
PESO (mg)	t°	20	172,35	1,03			
	60°C	20	171,73	0,79	1,69	2,14*	99,64
	70°C	20	171,74	1,25	1,48	1,67	100,00
	80°C	20	170,97	0,99	1,08	4,32**	99,20
	90°C	20	169,24	1,76	2,95*	6,82**	98,19
R. FRACTURA (Kg)	t°	5	5,45	0,45			
	60°C	5	4,80	0,33	1,88	2,63*	88,07
	70°C	5	4,60	0,28	2,46	3,58**	84,40
	80°C	5	5,25	0,35	1,60	0,78	100,00
	90°C	5	0,70	0,11	16,00**	23,04**	12,84
T. DISGREGACION (min)	t°	6	2,01	0,50			
	60°C	6	2,09	0,09	30,78**	0,40	100,00
	70°C	6	2,49	0,30	2,88	2,00	100,00
	80°C	6	3,24	0,81	2,62	3,15*	161,19
	90°C	6	0,46	0,11	20,95**	7,37**	22,89
t70 (min)	t°	6	14,50	0,31			
	60°C	6	13,88	0,97	9,85*	1,48	100,00
	70°C	6	13,72	0,40	1,71	3,76**	94,62
	80°C	6	14,96	1,15	13,88**	0,95	100,00
	90°C	6	7,60	0,38	1,55	34,42**	52,41
E. D. 60' (%)	t°	6	78,80	0,48			
	60°C	6	80,56	1,11	5,36*	3,56**	102,23
	70°C	6	81,20	0,37	1,73	9,74**	103,05
	80°C	6	79,68	0,66	1,87	2,64*	101,12
	90°C	6	87,44	1,20	6,19*	16,38**	110,96

t° = tiempo inicial

*0,05 > P > 0,01

**P < 0,01

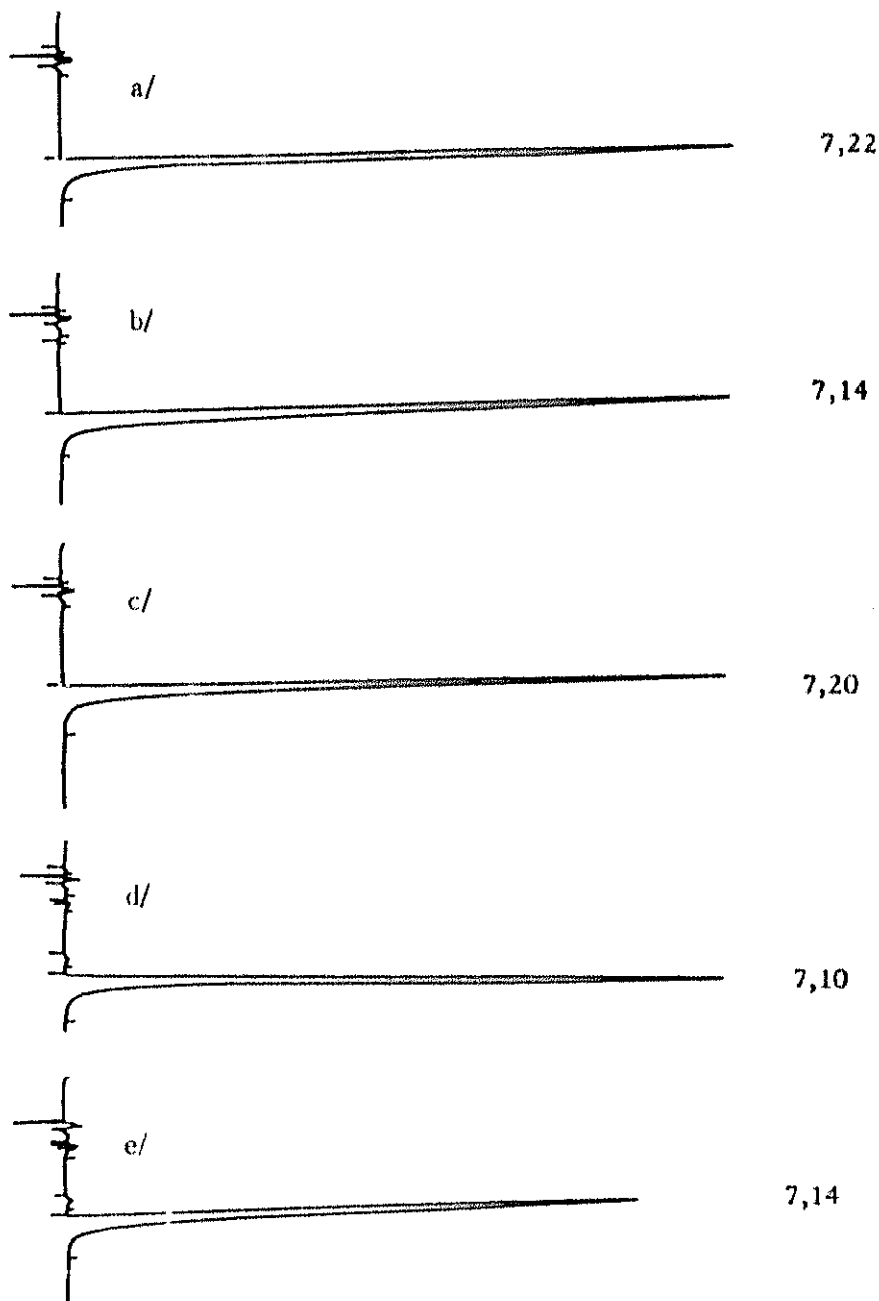


Figura 31. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-I almacenados durante 78 semanas:

- a/ Patrón de Mitonafide.
- b/ 60°C.
- c/ 70°C.
- d/ 80°C.
- e/ 90°C.

Tabla LXXX: Contenido en Mitonafide de los comprimidos M-I: valores medios.

Semanas	n	60°C	70°C	80°C	90°C
		\bar{x} (mg)	\bar{x} (mg)	\bar{x} (mg)	\bar{x} (mg)
0	20	101,50	101,50	101,50	101,50
6	4	101,97	102,01	100,85	100,43
12	4	101,97	102,03	100,67	98,20
18	4	101,99	102,12	100,18	99,64
24	4	101,98	101,83	100,28	99,45
30	4	101,96	100,99	100,45	99,22
36	4	101,95	100,56	100,05	97,35
42	4	101,51	100,36	100,02	96,52
48	4	100,79	100,13	99,76	96,31
54	4	100,67	100,00	98,73	95,11
63	4	99,74	99,62	97,98	93,01
78	4	99,92	99,35	97,37	91,15

Tabla LXXXI: Correlación de la cantidad de Mitonafide frente al tiempo y mejor ajuste (orden cero, orden uno) de los datos de estabilidad química de los comprimidos M-I.

	60°C	70°C	80°C	90°C
r	0,873**	0,974**	0,939**	0,994**
r ²	0,762	0,948	0,881	0,987
σ^2 orden cero	0,362	0,256	1,086	1,207
σ^2 orden uno	0,366	0,251	1,102	1,273
F	1,01	1,02	1,02	1,06
F (orden cero)	0,36	0,49	0,34	0,99
χ^2 (orden uno)	3,66	2,51	11,02	12,73
Mejor ajuste	0/1	0/1	0/1	0/1

**P<0,01

Tabla LXXXII: Parámetros de la ecuación de ajuste seleccionada.

	60°C	70°C	80°C	90°C
modelo seleccionado	$Q = Q_0 - k t$			
Q_0 (mg)	102,63	102,41	101,54	102,16
σ (mg)	0,26	0,16	0,24	0,28
k (mg/semanas)	0,036	0,044	0,050	0,144
σ (mg/semanas)	0,006	0,003	0,006	0,005

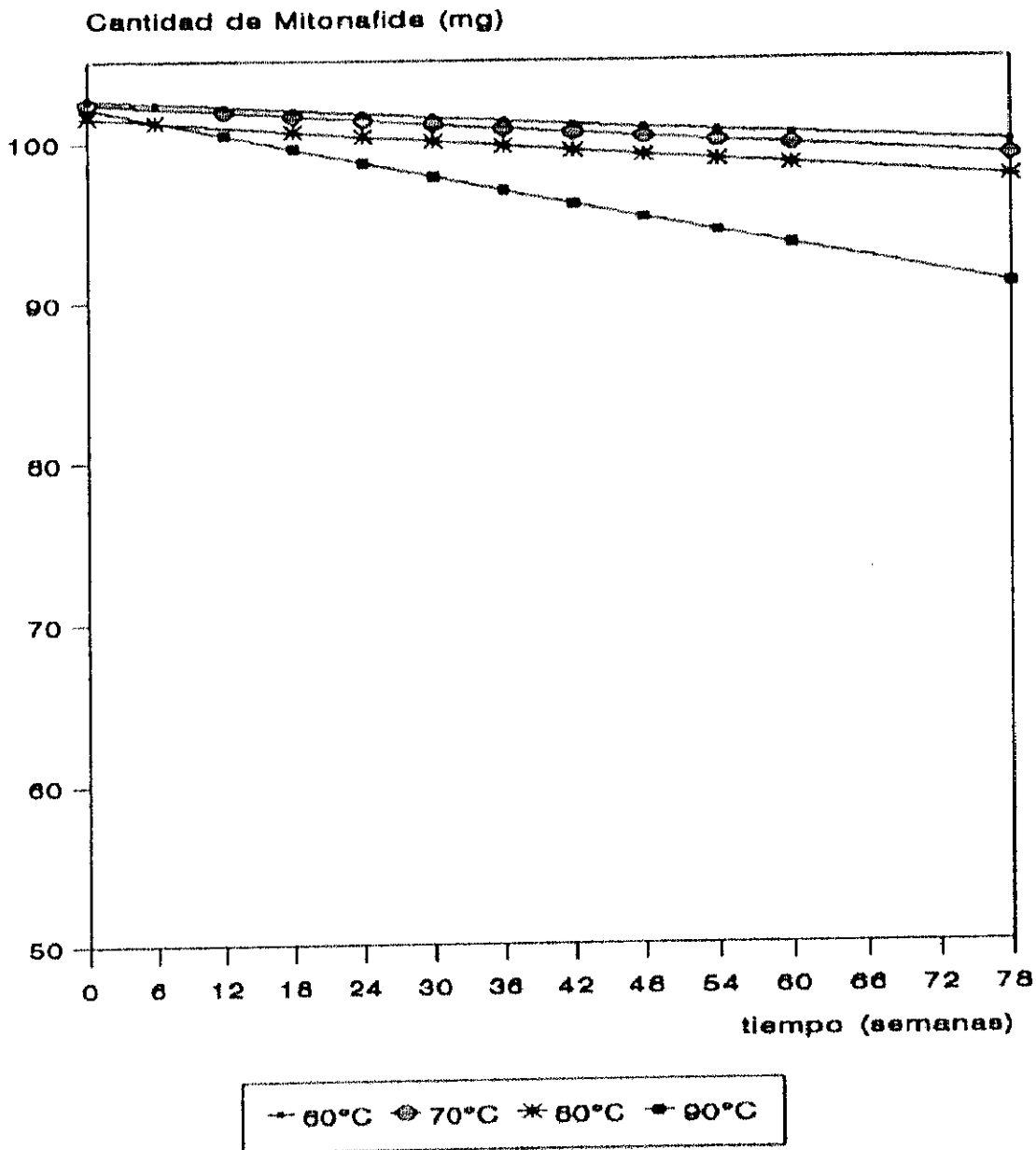


Figura 32. Perfil de degradación del Mitonafide incluido en los comprimidos M-I para las distintas temperaturas: valores estimados.

Tabla LXXXIII: Ecuación de Arrhenius: correlación entre las constantes de degradación y la inversa de la temperatura absoluta. Porcentaje de principio activo remanente a las 78 semanas de exposición a 60, 70, 80 y 90°C.

ARRHENIUS	r	0,871
	r ²	0,758
Q _{78 semanas} (%)	60°C	97,26
	70°C	96,65
	80°C	96,16
	90°C	89,01

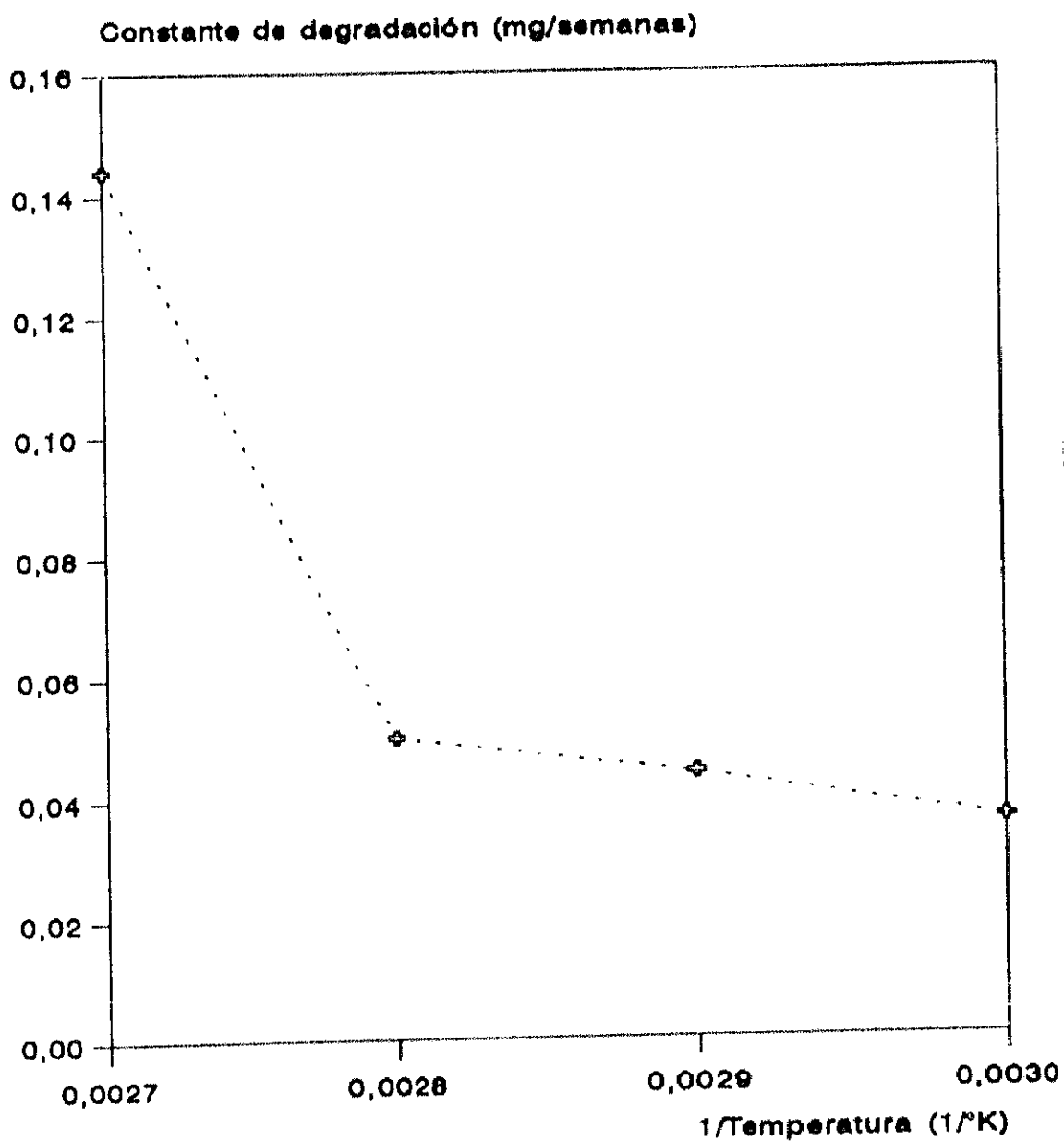


Figura 33. Constante de degradación del Mitonafide incluido en los comprimidos M-I frente a la inversa de la temperatura absoluta.

COMPRIMIDOS M-II

Estabilidad física.

El aspecto físico de los comprimidos M-II se deteriora con el almacenamiento (figura 27). Su superficie presenta un moteado oscuro y un aspecto pulverulento con el paso del tiempo. El color de los comprimidos se oscurece, de forma muy acusada a 90°C.

Cabe destacar que los comprimidos almacenados a 90°C presentan grietas cuya profundidad es mayor con el tiempo de almacenamiento, lo cual dificulta su manipulación.

El oscurecimiento, al igual que en los M-I, puede deberse, entre otras cosas, a la coloración marrón que adquiere la lactosa (20,18% de la composición total) a elevadas temperaturas.

Las dimensiones de los comprimidos no se modifican con el almacenamiento (tabla LXXXIV y figura 34). Su determinación sí se complica cuando la temperatura de almacenamiento es de 90°C dada la fragilidad de los comprimidos, ya comentada.

El peso de los comprimidos disminuye moderadamente con el tiempo de almacenamiento (tabla LXXXIV y figura 35). Aunque al final del estudio (78 semanas) prácticamente no existen diferencias entre los valores de peso obtenidos a las cuatro temperaturas empleadas, a lo largo del estudio de estabilidad los valores obtenidos a 90°C son inferiores a los del resto.

La ligera pérdida de peso se debe a la desecación de los comprimidos. Probablemente, este agua que se elimina proceda del almidón de maíz, que se encuentra en un 19,81%, ya que es una sustancia que no presenta mucha dificultad para ceder el agua que contiene (10-14%).

La friabilidad de los comprimidos no se modifica o aumenta con el tiempo de almacenamiento, según la temperatura ambiente (tabla LXXXIV y figura 35). Así, los valores de friabilidad obtenidos a 80°C son

mayores que los iniciales ya a las 6 semanas de almacenamiento. Los valores obtenidos a 90°C aumentan a partir de las 30 semanas, pero llega un momento en que la friabilidad no se puede determinar porque se produce la ruptura de los comprimidos.

La resistencia a la fractura disminuye con el almacenamiento (tabla LXXXV y figura 35). Esta disminución es del mismo orden cuando los comprimidos se someten a 60, 70 y 80°C, y se manifiesta a partir de las 18 semanas de almacenamiento. El valor de resistencia a la fractura a las 78 semanas de exposición a estas temperaturas es un 26,21% menor que el inicial. Cuando la temperatura ambiente es de 90°C, la resistencia a la fractura disminuye desde el primer tiempo de muestreo y esta disminución se acelera a partir de las 24 semanas de almacenamiento, pasando de un valor inicial de 3,75 Kg a que los comprimidos se fracturen a la menor presión ejercida por el durómetro.

La evolución de la resistencia a la fractura con el almacenamiento probablemente se pueda atribuir, como en el caso de los comprimidos M-I, a la inestabilidad de la lactosa a 90°C. Vale la pena destacar que este es el único excipiente mayoritario que presentan en común ambos comprimidos. Cualitativamente, el comportamiento de los dos tipos de comprimidos frente a la resistencia a la fractura es igual. Cuantitativamente, este efecto es más intenso en los M-II. Pudiera llamar la atención porque en este caso la técnica de elaboración es compresión previa granulación vía húmeda convencional, sin embargo, hay que recordar que el excipiente de compresión directa utilizado en los M-I (Ludipress) es un granulado, ya elaborado, de lactosa con un disgregante y un aglutinante.

El tiempo de disgregación se modifica con el tiempo de almacenamiento de distinta manera según la temperatura empleada (tabla LXXXV y figura 36). Los valores de tiempo de disgregación obtenidos a 60 y 70°C perfilan una curva de Gauss ascendente y achatada. Los valores obtenidos a 80°C son iguales o mayores que los de las otras

temperaturas, según el tiempo de muestreo que se considere: aumentan en las primeras semanas del estudio permaneciendo, luego, constantes. Los valores obtenidos a los 90°C aumentan ligeramente durante las primeras 24 semanas de almacenamiento y disminuyen de forma acentuada a partir de las 30 semanas.

A pesar de la disminución de la resistencia a la fractura, el tiempo de disgregación aumenta con el almacenamiento a todas las temperaturas salvo pasadas 30 semanas de almacenamiento a 90°C: sólo en esta situación, la drástica disminución de la resistencia a la fractura lleva aparejada una disminución también drástica del tiempo de disgregación.

Hay dos fenómenos que pueden producir efectos opuestos sobre la disgregación de los comprimidos. Uno es la disminución de la resistencia a la fractura, que puede producir una disminución del tiempo de disgregación. El otro, es una alteración de la capacidad disgregante del almidón de maíz, que puede producir un aumento del tiempo de disgregación. El equilibrio entre ambos efectos marca los resultados obtenidos.

La capacidad disgregante del almidón de maíz probablemente se merme, bien por la alteración química del mismo, bien por un aumento de la porosidad del comprimido que dificulta su acción disgregante. Efectivamente, a través de la observación de la evolución del aspecto físico de los comprimidos, se puede pensar que la porosidad del comprimido aumenta con el tiempo de almacenamiento. Si se tiene en cuenta que el mecanismo disgregante del almidón de maíz es por hinchamiento y posterior creación de tensiones en el interior del comprimido, un aumento de la porosidad se puede traducir en un aumento del tiempo de disgregación (31,42).

A 60 y 70°C, primero se manifiesta la alteración de la capacidad disgregante del almidón de maíz (aumenta el tiempo de disgregación) que luego se compensa por la disminución de la resistencia a la fractura (disminuye el tiempo de disgregación hasta alcanzar el valor inicial).

A 80°C, primero se manifiesta la alteración de la capacidad disgregante del almidón de maíz que luego se compensa con la disminución de la resistencia a la fractura, pero sólo parcialmente, de forma que el tiempo de disgregación es mayor que el inicial. A 90°C, primero se observa un ligero aumento del tiempo de disgregación por la alteración de la capacidad disgregante del almidón que luego, no sólo es compensado, sino que, además, es superado por la drástica disminución de la resistencia a la fractura, disminuyendo el tiempo de disgregación también drásticamente.

La velocidad de disolución es mayor o no se modifica con el tiempo de almacenamiento (tabla LXXXV). Es muy curioso el comportamiento de esta propiedad frente a las distintas temperaturas empleadas, como manifiestan los dos parámetros de disolución estudiados (figura 36). Los valores de t_{70} obtenidos a 60, 70 y 90°C aumentan con distinta intensidad y distinta velocidad durante las primeras semanas de almacenamiento y luego disminuyen con distinta velocidad, de forma que, al final del estudio de estabilidad, son similares al valor inicial. Los valores de t_{70} obtenidos a 80°C no varían durante las primeras 30 semanas de almacenamiento y luego aumentan, suponiendo un incremento del 143,85% a las 78 semanas de exposición. A menor escala, los valores de $ED^{60'}$ se comportan de forma similar, pero en sentido contrario, que los correspondientes de t_{70} .

A 60 y 70°C, existe un total paralelismo entre disgregación y disolución.

A 80°C, se observa una relación entre el tiempo de disgregación y la velocidad de disolución a partir de las 30 semanas de almacenamiento. Desde este momento, la velocidad de disolución disminuye con el almacenamiento, aunque el tiempo de disgregación permanece constante. Esto es debido, probablemente, a que estos valores constantes de disgregación son consecuencia, como ya se ha dicho anteriormente, de dos fenómenos opuestos que siguen evolucionando a lo largo del tiempo: por un lado, la disminución de la resistencia a la fractura de los

comprimidos, por otro lado, la alteración de la capacidad disgregante del almidón, siendo este último fenómeno el único que afecta directamente a la disolución del principio activo, ya que el agente disgregante se incorporó intragranularmente en la elaboración de los comprimidos.

A 90°C, durante las primeras semanas de almacenamiento, los valores de t_{70} son los más altos y, sin embargo, los de disgregación están por debajo de los de 80°C, porque el aumento del tiempo de disgregación, debido a la disminución de la capacidad disgregante del almidón, se ve compensado, en gran medida, por la disminución de la resistencia a la fractura, observada desde el primer tiempo de muestreo, pero esta compensación no se manifiesta en la disolución del principio activo. A partir de las 24 semanas de almacenamiento, la disminución del tiempo de disgregación es tan intensa que disminuyen los valores de t_{70} hasta volver a alcanzar los valores obtenidos a tiempo inicial.

La influencia de las distintas temperaturas de trabajo en cada una de las características físicas de los comprimidos M-II se puede observar a través de los resultados obtenidos al comparar los valores del último muestreo con los iniciales. Estos resultados están recogidos en la tabla LXXXVI.

La resistencia mecánica y el tiempo de disgregación sufren una alteración total cuando la temperatura ambiente es de 90°C, mientras que la velocidad de disolución, evaluada a través de los parámetros t_{70} y $ED^{60'}$, sufre una mayor modificación cuando esta temperatura es de 80°C.

A 60 y 70°C, se detectan escasas variaciones en todas las características físicas analizadas.

Estabilidad química.

El contenido en Mitonafide de los comprimidos M-II varía con el almacenamiento según se desprende de los datos de la tabla LXXXVII. Al analizar los cromatogramas obtenidos en el último muestreo, recogidos

en la figura 37, se aprecia una clara disminución en el contenido en principio activo de los comprimidos, especialmente a 80 y 90°C.

Al tratar estadísticamente estos datos experimentales no se detecta correlación significativa entre la cantidad remanente de Mitonafide y el tiempo de almacenamiento a las temperaturas de 60 y 70°C (tabla LXXXVIII). Al no depender estadísticamente del tiempo de almacenamiento los valores de cantidad remanente de principio activo, se considera que la constante de degradación a estas temperaturas es igual a cero.

A 80 y 90°C, sí existe correlación estadísticamente significativa entre las dos variables analizadas. Sin embargo, a 80°C esta correlación es muy baja, con un coeficiente de determinación (r^2) de 0,371.

De acuerdo a estos resultados el ajuste a los dos modelos cinéticos propuestos (orden cero y orden uno) sólo se realiza con los datos experimentales obtenidos a 80 y 90°C.

Los valores de varianza obtenidos para ambos ajustes no permiten discernir, para ninguna de las dos temperaturas, entre uno u otro modelo cinético. Sin embargo, a 90°C sólo se obtiene un ajuste estadísticamente bueno para una cinética de primer orden, por lo que este es el modelo seleccionado.

De acuerdo a este modelo y para poder comparar el efecto de estas temperaturas sobre la estabilidad química de estos comprimidos, se calculan los valores de la constante de degradación para 80 y 90°C (tabla LXXXIX).

El valor de constante de degradación a 90°C es significativamente mayor que el obtenido a 80°C. Esta mayor velocidad de descomposición del Mitonafide también se puede observar en la representación gráfica de las ecuaciones cinéticas obtenidas para cada temperatura (figura 38).

A pesar de estas diferencias en cuanto a la velocidad de degradación del Mitonafide con la temperatura de almacenamiento, es importante destacar que, después de 78 semanas, el porcentaje de principio activo degradado es: 1,66% cuando la temperatura es de 80°C

y 6,63% cuando la temperatura es de 90°C. A 60 y 70°C no se detecta degradación estadísticamente significativa (tabla LXXXIX).

Es obvio que no se puede aplicar la ecuación de Arrhenius en este estudio, al no disponer de una constante de degradación distinta de cero a 60 y 70°C (figura 19).

Tabla LXXXIV: Dimensiones, peso y friabilidad de los comprimidos M-II: valores medios y coeficientes de variación, excepto para la friabilidad.

	60° C		70° C		80° C		90° C	
DIMENSIONES: a (cm)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	0,705	0,001	0,705	0,001	0,705	0,001	0,705	0,001
6	0,705	0,501	0,706	0,321	0,705	0,001	0,705	0,001
10	0,705	0,001	0,705	0,001	0,705	0,501	0,704	0,321
30	0,705	0,001	0,704	0,321	0,705	0,001	0,705	0,001
48	0,706	0,321	0,705	0,001	0,706	0,321	0,704	0,321
78	0,704	0,321	0,705	0,001	0,705	0,501	0,706	0,321
DIMENSIONES: b (cm)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	0,470	1,061	0,470	1,061	0,470	1,061	0,470	1,061
6	0,471	0,481	0,470	0,651	0,469	0,891	0,469	0,891
10	0,472	0,581	0,471	0,481	0,472	0,581	0,472	0,581
30	0,470	0,651	0,471	0,891	0,468	0,591	0,468	0,591
48	0,470	0,751	0,469	0,481	0,472	0,581	0,471	0,891
78	0,471	0,481	0,471	0,481	0,469	0,681	0,470	0,751
DIMENSIONES: c (cm)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	0,222	1,001	0,222	1,001	0,222	1,001	0,222	1,001
6	0,221	1,011	0,224	1,001	0,223	1,231	0,223	1,231
10	0,220	2,271	0,219	1,021	0,222	1,231	0,221	1,011
30	0,222	1,231	0,221	1,011	0,223	1,231	0,222	2,011
48	0,224	1,001	0,222	2,011	0,220	2,271	0,222	1,231
78	0,223	1,231	0,223	1,231	0,221	1,011	0,224	1,001
PESO (mg)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	104,56	0,681	104,56	0,681	104,56	0,681	104,56	0,681
6	105,33	1,311	102,93	2,191	102,80	1,581	103,67	1,681
12	104,27	1,061	104,34	1,451	103,11	2,541	104,03	1,101
18	103,67	1,801	104,02	1,421	103,21	1,341	103,02	1,791
24	103,65	1,361	103,42	1,751	103,21	1,791	100,92	1,711
30	102,86	1,301	103,03	1,191	103,00	2,601	101,90	1,291
36	103,74	1,031	102,84	1,241	102,49	1,331	101,31	1,091
42	103,49	1,321	102,82	0,961	102,71	0,921	100,99	0,981
48	102,45	1,721	102,47	1,091	101,66	1,151	100,36	1,171
54	102,57	1,751	102,39	1,201	102,04	1,111	100,12	1,441
63	102,60	1,511	102,45	1,151	101,52	1,211	100,67	0,991
78	102,69	1,411	102,20	1,191	100,99	1,201	100,37	1,341
FRIABILIDAD								
Semanas	X		X		X		X	
0	0,221		0,221		0,221		0,221	
6	0,211		0,241		0,401		0,271	
12	0,261		0,261		0,451		0,281	
18	0,271		0,281		0,441		0,271	
24	0,281		0,301		0,571		0,241	
30	0,281		0,281		0,511		0,121	
36	0,231		0,251		0,521		0,181	
42	0,221		0,201		0,591		-	
48	0,201		0,181		0,331		-	
54	0,191		0,171		0,321		-	
63	0,211		0,191		0,301		-	
78	0,241		0,211		0,431		-	

Tabla LXXXV: Resistencia a la fractura, tiempo de disgregación y velocidad de disolución (t_{70} y ED^{60}) de los comprimidos M-II: valores medios y coeficiente de variación.

	60° C		70° C		80° C		90° C	
RESISTENCIA A LA FRACTURA (Kg Erveka)								
Semanas	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.
0	5,12	5,63%	5,12	5,63%	5,12	5,63%	5,12	5,63%
6	4,97	4,56%	4,90	5,82%	4,97	4,23%	4,47	7,32%
12	5,50	5,00%	5,05	5,42%	5,10	6,60%	4,17	5,39%
18	4,90	6,84%	4,85	4,61%	4,70	7,39%	3,90	8,60%
24	4,52	9,01%	4,75	6,45%	4,50	6,80%	3,75	0,00%
30	4,27	4,16%	4,50	5,55%	4,47	5,09%	3,87	11,64%
36	4,01	5,16%	4,12	5,39%	3,90	7,47%	2,35	9,51%
42	3,97	3,51%	4,95	6,25%	3,85	3,56%	1,80	6,21%
48	4,02	5,16%	3,55	10,44%	3,35	10,01%	1,30	8,60%
54	3,75	4,71%	3,80	7,21%	4,20	6,52%	0,90	24,84%
63	4,02	5,16%	4,05	5,16%	4,00	4,42%	0,55	20,33%
78	3,87	5,50%	3,80	3,94%	3,80	5,23%	0,60	-
DISGREGACION (min)								
Semanas	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.
0	8,92	12,78%	8,92	12,78%	8,92	12,78%	8,92	12,78%
6	8,97	7,18%	8,90	7,43%	12,45	9,21%	10,60	7,17%
12	9,76	9,95%	9,87	8,61%	11,42	7,12%	10,49	7,30%
18	8,67	8,13%	8,92	11,45%	12,78	7,51%	10,91	6,79%
24	10,75	5,42%	10,75	5,59%	11,47	7,74%	11,49	8,73%
30	11,49	4,92%	11,22	7,68%	11,98	4,51%	11,40	5,02%
36	11,52	6,92%	10,45	5,34%	12,09	3,74%	9,14	3,75%
42	11,61	3,76%	10,74	6,10%	11,22	4,18%	8,77	9,58%
48	11,17	3,41%	10,48	7,14%	11,15	4,21%	8,44	10,75%
54	9,47	2,97%	9,87	6,26%	12,84	4,50%	4,47	10,04%
63	9,52	4,73%	9,35	4,53%	12,94	4,19%	3,00	19,42%
78	8,77	5,20%	8,67	5,55%	12,22	5,47%	2,40	12,95%
t_{70} (min)								
Semanas	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.
0	16,73	6,18%	16,73	6,18%	16,73	6,18%	16,73	6,18%
6	11,71	13,25%	16,37	7,60%	17,80	11,01%	21,75	2,28%
12	-	-	-	-	-	-	-	-
18	15,77	9,37%	17,77	12,24%	17,77	9,74%	14,77	4,54%
30	17,75	8,97%	19,77	8,32%	17,75	11,74%	19,77	9,55%
48	19,77	3,11%	19,77	3,35%	19,44	7,74%	22,75	6,02%
78	18,75	8,67%	18,75	10,20%	19,77	11,74%	22,75	10,17%
ED_{60} (%)								
Semanas	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.
0	81,73	2,17%	81,73	2,17%	81,73	2,17%	81,73	2,17%
6	81,73	2,17%	81,73	2,17%	81,73	2,17%	81,73	2,17%
12	-	-	-	-	-	-	-	-
18	81,73	2,17%	81,73	2,17%	81,73	2,17%	81,73	2,17%
30	81,73	2,17%	81,73	4,11%	81,73	2,17%	81,73	2,17%
48	81,73	2,17%	81,73	2,97%	81,73	2,17%	81,73	2,17%
78	81,73	1,52%	81,73	4,00%	81,73	2,17%	81,73	2,17%

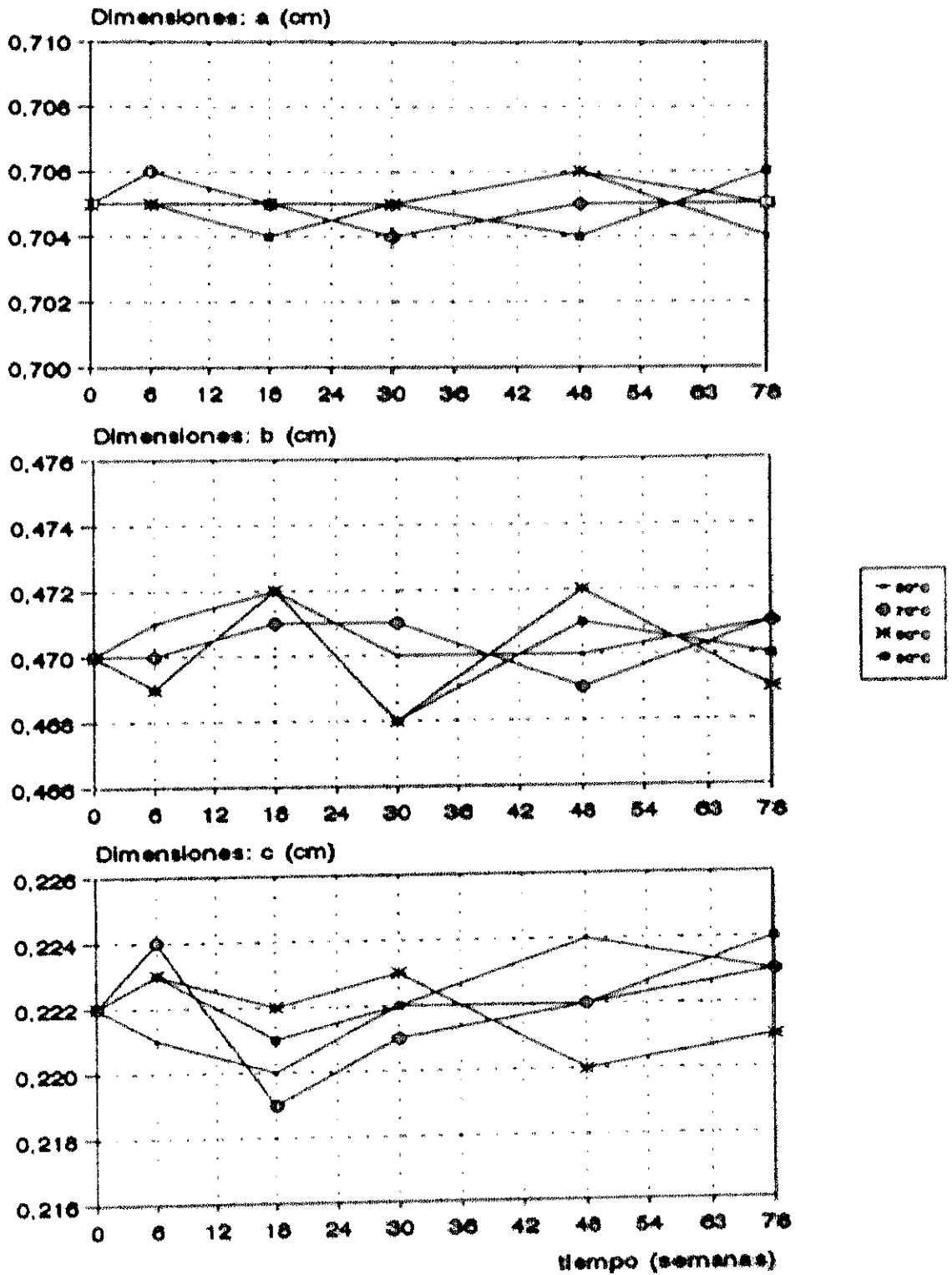


Figura 14. Representación gráfica de los valores de las dimensiones de los comprimidos M-II frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

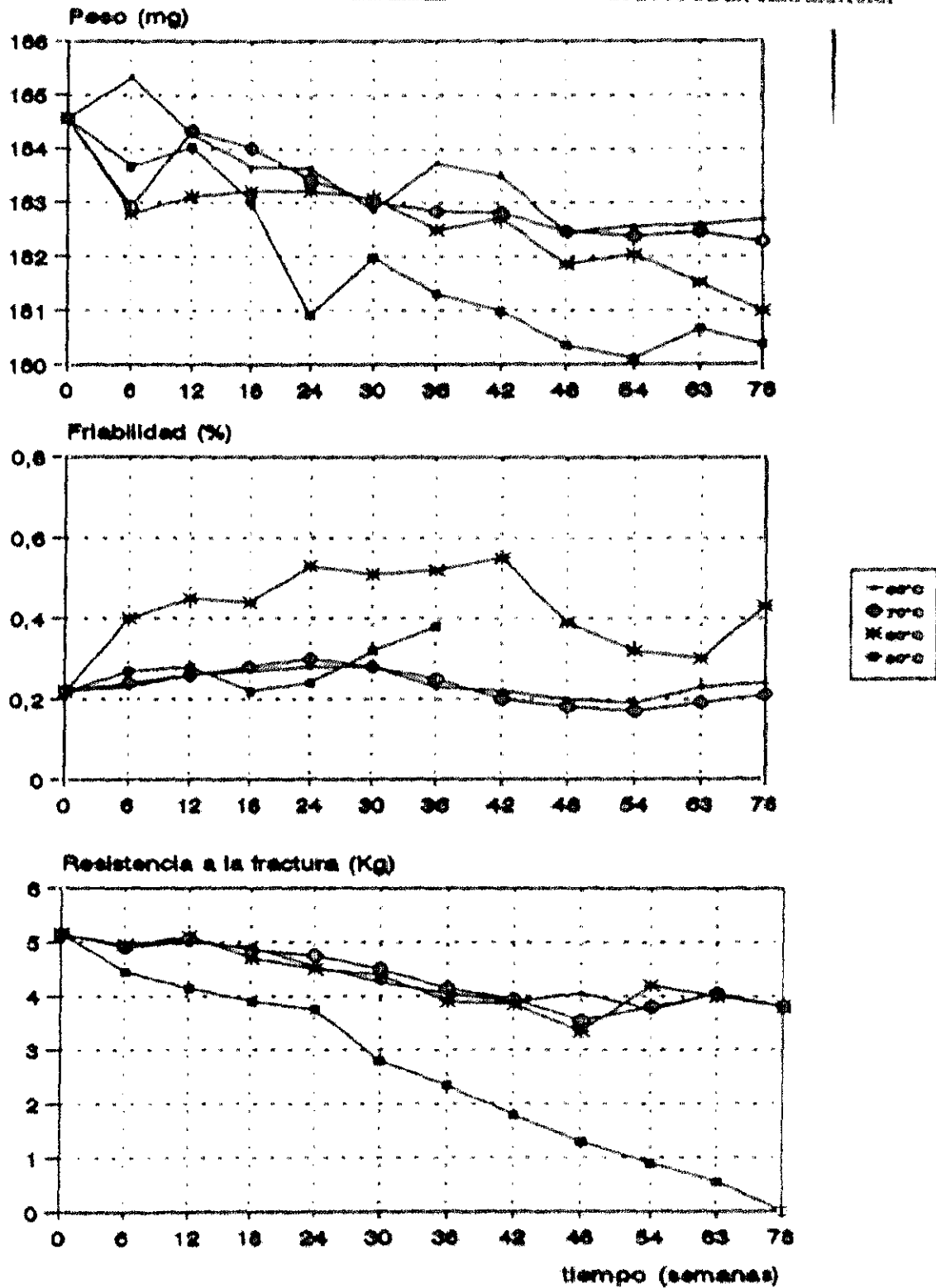


Figura 35. Representación gráfica de los valores de peso, friabilidad y resistencia a la fractura de los comprimidos M-II frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

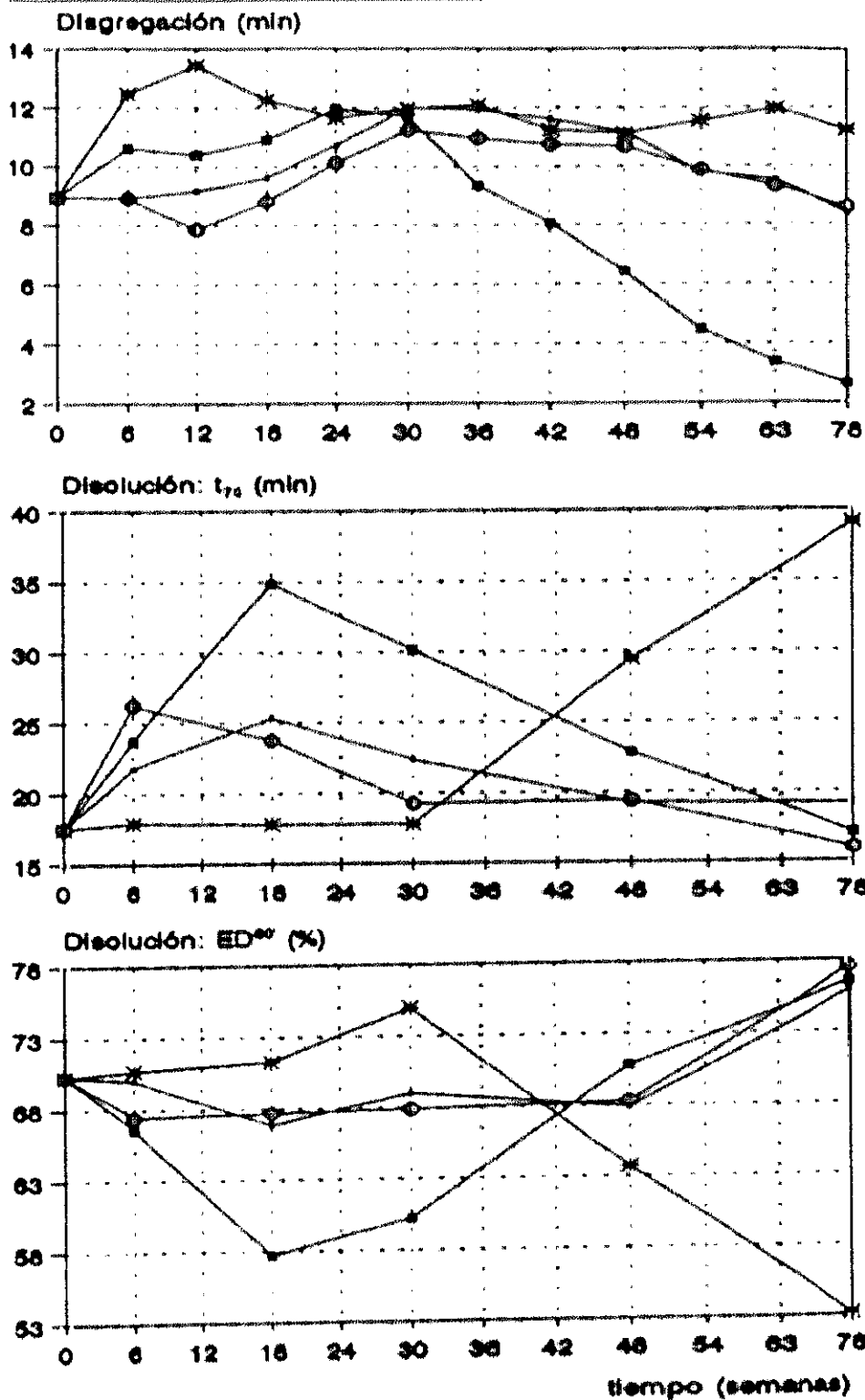


Figura 36. Representación gráfica de los valores de tiempo de disgregación, t_{70} y ED^{60} de los comprimidos M-II frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

Tabla LXXXVI: Resultados estadísticos obtenidos en la comparación de los valores de las características físicas de los comprimidos M-II correspondientes al último muestreo con los valores iniciales de las mismas.

	t°	n	\bar{x}	σ	P		t respecto inicial
					Snedecor	Student	
PESO (mg)	t°	20	184,56	1,25			
	60°C	20	182,69	2,61	4,44**	2,88**	98,99
	70°C	20	182,28	2,18	3,05**	4,07**	98,76
	80°C	20	180,99	2,18	3,05**	6,37**	98,07
	90°C	20	180,17	2,42	3,77**	6,88**	97,73
R. FRACTURA (Kg)	t°	5	3,15	0,29			
	60°C	5	3,80	0,21	1,86	6,54**	73,79
	70°C	5	3,80	0,11	6,5*	9,86**	73,79
	80°C	5	3,80	0,21	1,86	8,54**	73,79
	90°C	5	0,00	0,00	—	—	—
T. DISGREGACION (min)	t°	6	8,92	1,14			
	60°C	6	8,19	0,44	6,83*	1,05	100,00
	70°C	6	8,60	0,48	5,70*	0,62	100,00
	80°C	6	11,23	0,61	3,47	4,38**	125,90
	90°C	6	2,50	0,49	5,46*	12,68**	28,03
t70 (min)	t°	6	16,03	0,99			
	60°C	6	19,16	1,27	1,64	4,77**	119,53
	70°C	6	15,95	3,19	10,45*	0,06	100,00
	80°C	6	39,09	2,94	8,85*	18,21**	243,85
	90°C	6	17,06	3,43	12,03**	0,71	100,00
R.D. 60' (%)	t°	6	70,28	1,49			
	60°C	6	75,87	1,21	1,52	7,16**	107,95
	70°C	6	77,55	3,10	4,33	5,19**	110,34
	80°C	6	53,16	3,09	4,31	12,23**	75,64
	90°C	6	76,51	2,07	1,95	5,98**	108,86

t° = tiempo inicial

*0,05 > P > 0,01 **P < 0,01

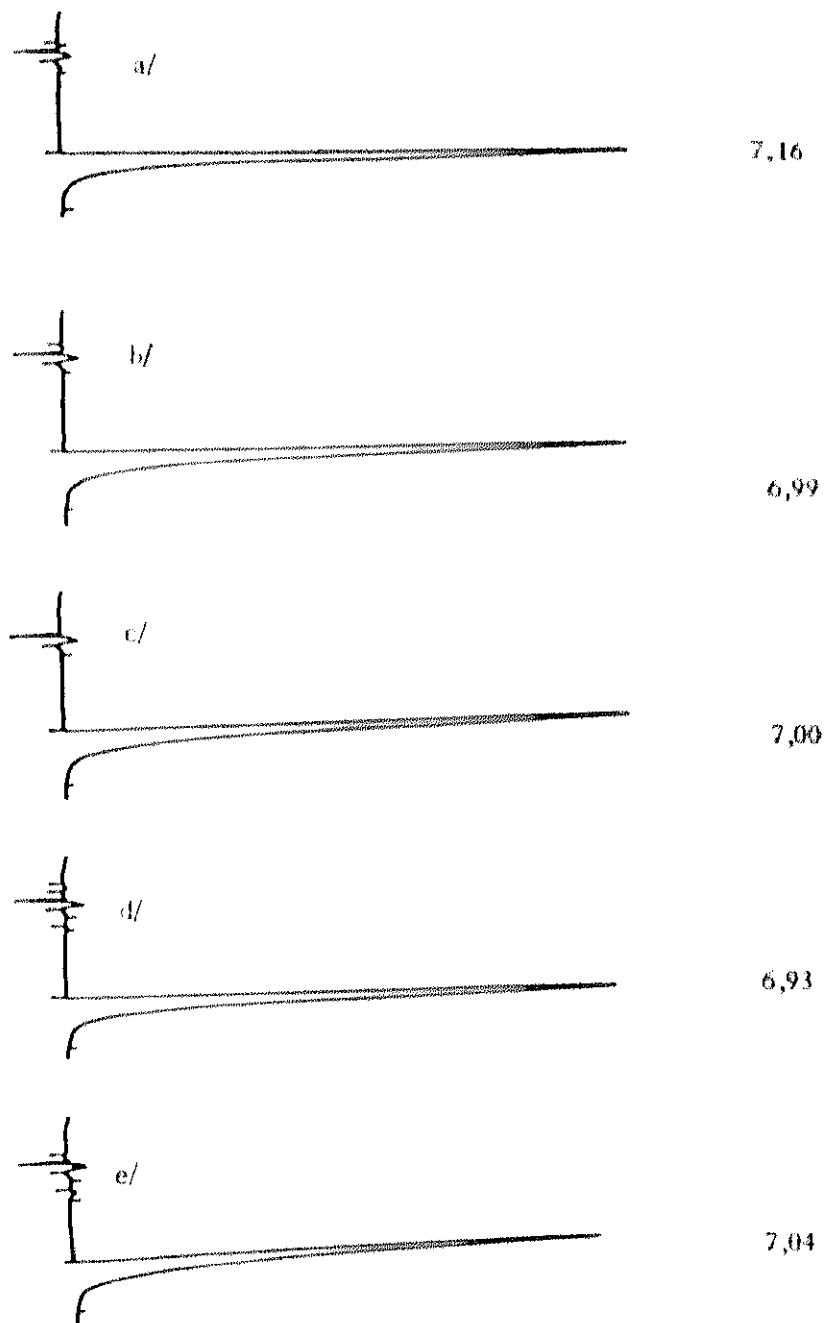


Figura 37. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-II almacenados durante 76 semanas:

- a/ Patrón de Mitonafide.
- b/ 60°C.
- c/ 70°C.
- d/ 80°C.
- e/ 90°C.

Tabla LXXXVII: Contenido en Mitonafide de los comprimidos M-II: valores medios.

Semanas	n	60°C	70°C	80°C	90°C
		\bar{x} (mg)	\bar{x} (mg)	\bar{x} (mg)	\bar{x} (mg)
0	20	103,05	103,05	103,05	103,05
6	4	102,42	102,17	101,04	101,12
12	4	102,03	102,21	100,52	98,77
18	4	101,65	102,19	100,67	101,58
24	4	102,53	101,15	101,60	99,23
30	4	102,39	102,74	101,29	100,23
36	4	102,65	102,45	100,91	98,71
42	4	102,10	101,28	100,38	98,8
48	4	101,89	101,85	100,65	97,54
54	4	102,44	101,69	99,67	97,55
63	4	101,65	101,84	99,03	96,65
78	4	100,98	101,26	98,57	94,66

Tabla LXXXVIII: Correlación de la cantidad de Mitonafide frente al tiempo y mejor ajuste (orden cero, orden uno) de los datos de estabilidad química de los comprimidos M-II.

	60°C	70°C	80°C	90°C
r	0,304	0,473	0,608*	0,947**
r ²	0,092	0,224	0,371	0,897
σ^2 orden cero	-	-	0,548	0,509
σ^2 orden uno	-	-	0,549	0,506
F	-	-	1,00	1,01
F (orden cero)	-	-	1,47	2,88**
χ^2 (orden uno)	-	-	5,49	5,06
Mejor ajuste	-	-	0/1	1

*0,05 > P > 0,01 **P < 0,01

Tabla LXXXIX: Parámetros de la ecuación de ajuste seleccionada. Porcentaje de principio activo remanente a las 78 semanas de exposición a 60, 70, 80 y 90°C.

	60°C	70°C	80°C	90°C
modelo seleccionado	Q = Q ₀ - kt			
Q ₀ (mg)	-	-	101,00	102,16
σ (mg)	-	-	0,23	0,28
k (1/semanas)	0	0	2,15E-04	8,52E-04
σ (1/semanas)	-	-	8,90E-05	9,08E-05
Q (%)	60°C		100,00	
	70°C		100,00	
78 semanas	80°C		98,34	
	90°C		93,57	

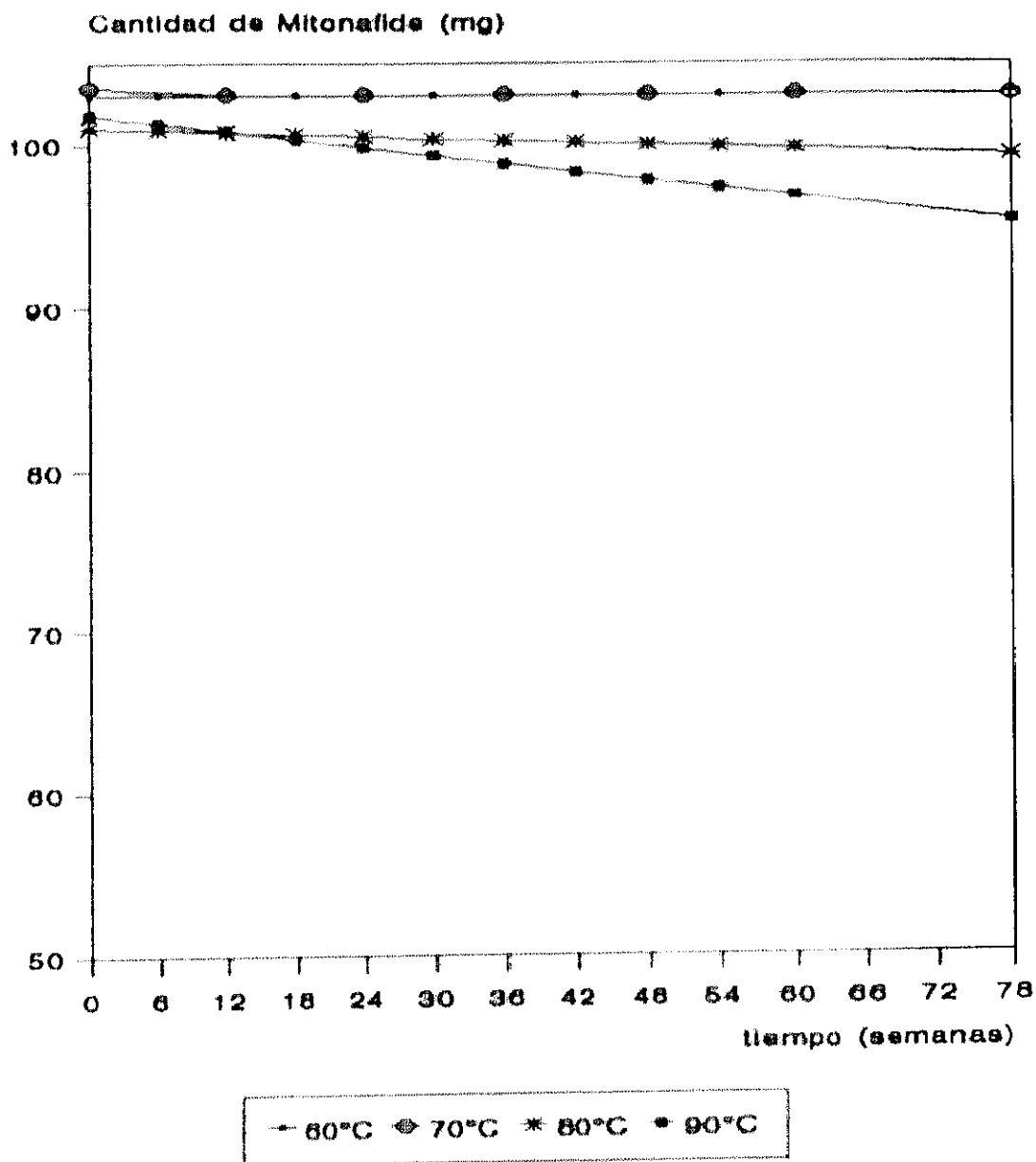


Figura 38. Perfil de degradación del Mitonafide incluido en los comprimidos M-II para las distintas temperaturas: valores estimados.

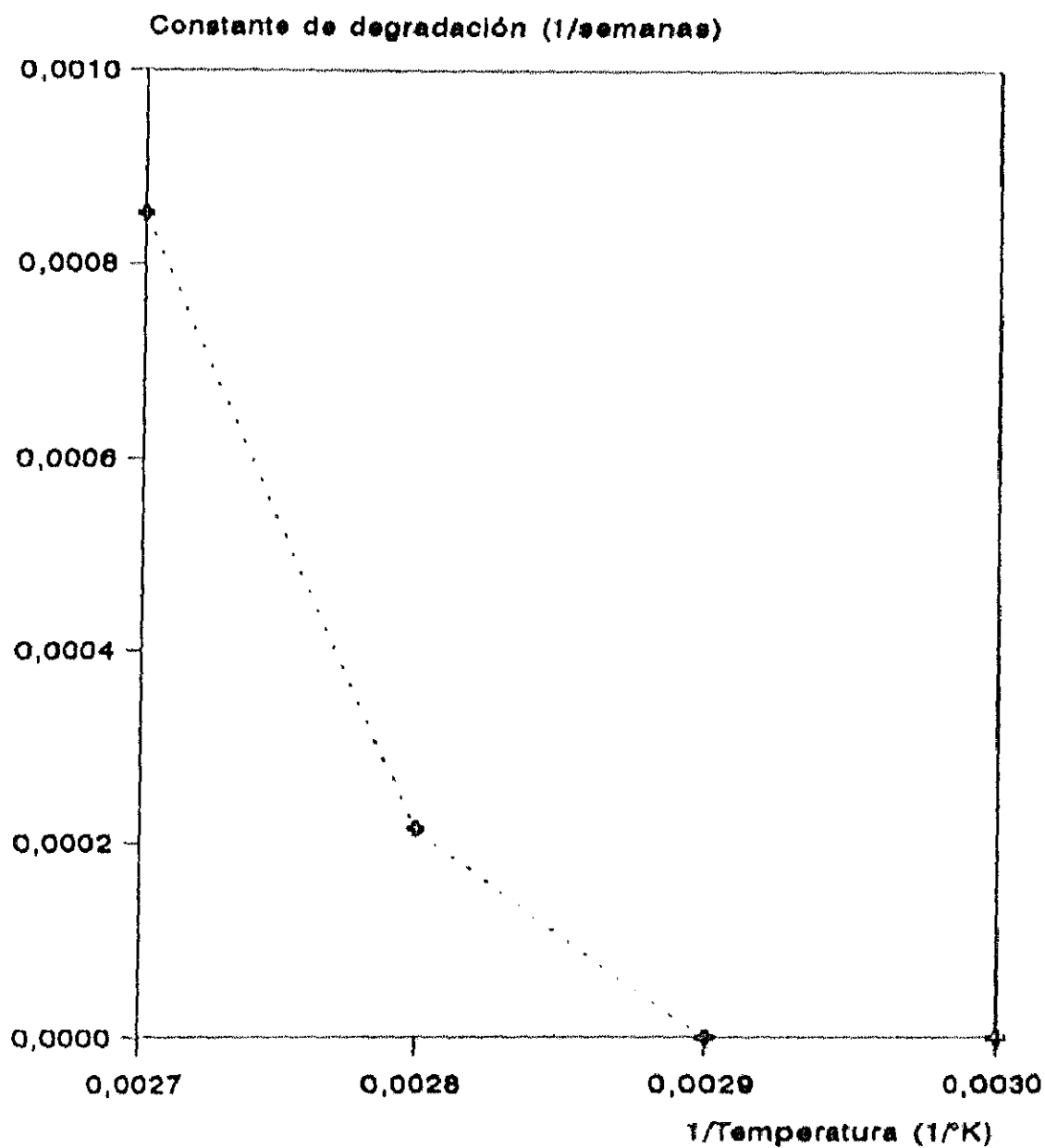


Figura 39. Constante de degradación del Mitonafide incluido en los comprimidos M-II frente a la inversa de la temperatura absoluta.

COMPRIMIDOS CON AMONAFIDE.2HCl

Las variaciones en el aspecto físico de los comprimidos con el almacenamiento se pueden observar en las muestras que aparecen en la fotografía de la figura 40.

Los datos resultantes de la determinación de las características físicas: dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura, disgregación y velocidad de disolución (t_{70} y ED^{10}) expresados a través de su valor medio y su coeficiente de variación, cuando es posible, están recogidos en la tablas LXXXIX y XC en el caso de los comprimidos A-I, en las tablas XCVI y XCVII para los comprimidos A-II y en las tablas CIII y CIV para los A-III. En estas tablas se han incluido, para facilitar su análisis, los valores medios obtenidos a tiempo inicial para todas estas características físicas. Estos valores se representan frente al tiempo de almacenamiento, para cada una de las temperaturas, en las figuras 41, 42 y 43 para los comprimidos A-I, 47, 48 y 49 para los comprimidos A-II y 53, 54 y 55 para los comprimidos A-III.

Los resultados estadísticos de la comparación de los valores de las características físicas correspondientes al último muestreo con los valores iniciales, están plasmados en las tablas XCI, XCVIII y CV para los comprimidos A-I, A-II y A-III, respectivamente. Este tratamiento estadístico no se ha aplicado a los datos de las dimensiones de los comprimidos porque resulta evidente que no difieren significativamente de los valores iniciales.

El contenido medio en principio activo de los comprimidos A-I, A-II y A-III, para cada tiempo de muestreo y cada temperatura de almacenamiento, se muestra en las tablas XCII, IC y CVI. En las figuras 44, 50 y 56 se reproducen los cromatogramas obtenidos en el análisis cuantitativo de Amonafide.2HCl en los comprimidos A-I, A-II y A-III después de 66 semanas de almacenamiento a 60, 70, 80 y 90°C.

Los resultados de la identificación del orden de la cinética de degradación a cada temperatura están recogidos en las tablas XCIII, C

y CVII para los comprimidos A-I, A-II y A-III y los parámetros de la ecuación del modelo cinético seleccionado para cada temperatura en las tablas XCIV, CI y CVIII. Estas ecuaciones cinéticas se representan gráficamente en las figuras 45, 51, y 57.

La representación gráfica de los valores de las constantes de degradación frente a la inversa de la temperatura absoluta se muestra en las figuras 46, 52 y 58 para los comprimidos A-I, A-II y A-III.

Por último, en las tablas XCV, CII y CIX se encuentran los resultados obtenidos al intentar ajustar estos datos a la ecuación de Arrhenius. Al no poderse realizar este ajuste, en estas tablas también se incluye el valor del porcentaje de principio activo remanente a las 66 semanas de almacenamiento, parámetro que se utiliza para comparar la estabilidad química del Amonafide.2HCl en los tres tipos de comprimidos.

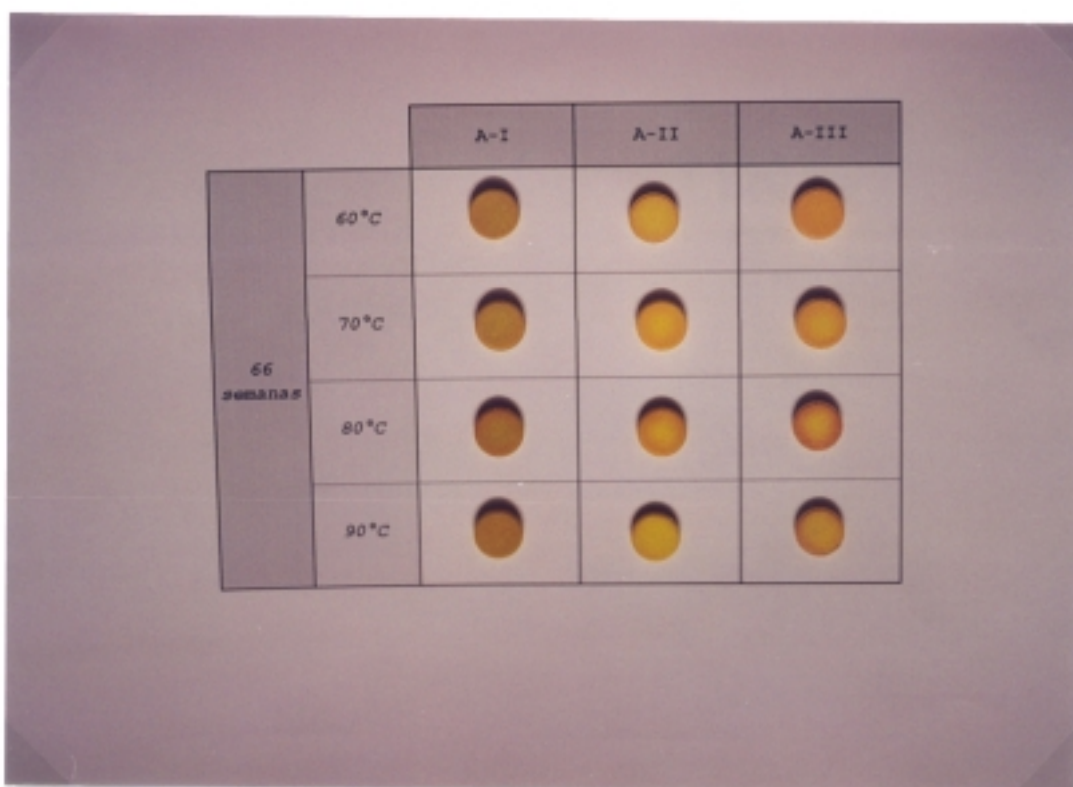


Figura 40. Aspecto físico de los comprimidos con Amonafide.2HCl (A-I, A-II y A-III) tras 66 semanas de almacenamiento isotérmico a 60, 70, 80 ó 90°C.

COMPRIMIDOS A-I

Estabilidad física.

Según se observa en la figura 40 los comprimidos se van oscureciendo progresivamente con el tiempo de almacenamiento. A 80 y 90°C este oscurecimiento se localiza en la periferia de los comprimidos, tomando la parte central una coloración amarillo-anaranjada intensa. También aparece un moteado oscuro en la superficie de los comprimidos.

Las dimensiones de los comprimidos A-I no se modifican significativamente con el almacenamiento en ninguna de las condiciones estudiadas (tabla LXXXIX y figura 41).

El peso de los comprimidos no varía prácticamente respecto al peso inicial cuando se almacenan a 60°C, pero, en los demás casos, el peso varía de forma inversa a la temperatura de almacenamiento, es decir, es menor cuanto mayor es la temperatura. Esta disminución es progresiva con el aumento del tiempo de exposición durante las 66 semanas que duró el estudio a 70°C, hasta las 30 semanas de almacenamiento a 80°C y hasta las 24 semanas a 90°C. Después el peso permanece constante (tabla LXXXIX y figura 42).

Esta pérdida de peso es lógica si se tiene en cuenta que un porcentaje elevado de la composición de estos comprimidos A-I se corresponde con sustancias higroscópicas que sufren una desecación a estas temperaturas. Esta desecación es tanto más rápida cuanto mayor es la temperatura de almacenamiento.

La resistencia mecánica de los comprimidos disminuye con el almacenamiento sólo cuando las temperaturas ambientales son 60 y 70°C. Esta disminución de la resistencia mecánica a 60 y 70°C se puede observar tanto en los valores de friabilidad (tabla LXXXIX) como en los de resistencia a la fractura (tabla XC). En las representaciones gráficas (figura 42) se ve como los valores de friabilidad a 60 y 70°C

aumentan a partir de las 42 semanas de almacenamiento. Este aumento en la friabilidad es mayor en los comprimidos almacenados a 60°C. El mismo fenómeno se observa en las gráficas de resistencia a la fractura: los valores a 60 y 70°C comienzan, en este caso, a disminuir a partir de las 42 semanas de almacenamiento, siendo esta disminución más patente en los comprimidos almacenados a 60°C.

A 80 y 90°C no se aprecian variaciones significativas en la resistencia mecánica de los comprimidos con el tiempo de almacenamiento, salvo una ligera disminución en los valores de friabilidad a 90°C al prolongar el almacenamiento.

Las variaciones de la resistencia mecánica de los comprimidos a 60 y 70°C se podrían entender si se tiene en cuenta que, cuando el Avicel (excipiente mayoritario en los comprimidos A-I) se usa con estearatos alcalinos en una proporción superior al 0,75% (estos comprimidos contienen un 0,80% de estearato magnésico), aumenta la posibilidad de ablandamiento de los comprimidos (127). Por otro lado, a las temperaturas de almacenamiento empleadas, la PVP (sustancia higroscópica) pierde agua, confiriendo más fuerza a la uniones del granulado, y esta pérdida es mayor cuanto mayor es la temperatura ambiente. Así, a los 80 y 90°C la pérdida de agua por parte de la PVP es de tal intensidad que amortigua el ablandamiento.

Los valores de disgregación (tabla XC y figura 43) aumentan con el tiempo de almacenamiento, pero de distinta forma según la temperatura ambiental. A 60 y 70°C, el incremento es de la misma magnitud y sólo se produce durante las 12 primeras semanas, manteniéndose, luego, los valores constantes. A 80°C, el aumento es mayor y se manifiesta hasta las 30 semanas de almacenamiento. A 90°C, el aumento es mucho mayor y continua durante todo el estudio.

Este incremento del tiempo de disgregación es debido, quizás, a que el estearato magnésico funde, ejerciendo un efecto impermeabilizante sobre el comprimido. A 60 y 70°C, seguramente, el aumento del tiempo de disgregación se ve contrarrestado por la disminución de la resistencia

mecánica.

En cuanto a la velocidad de disolución, su evolución con el almacenamiento depende del parámetro de disolución que se analice (tabla XC y figura 4J). Así, los valores de t_{70} varían, para las cuatro temperaturas, de igual forma que el tiempo de disgregación. Por el contrario, los valores de eficacia de disolución, tras una disminución acusada a las 6 semanas de exposición, se mantienen con el tiempo y la temperatura de almacenamiento.

Quizás, las diferencias entre la $ED^{10'}$ y el t_{70} se deban a su distinta capacidad de indicar modificaciones en la cinética de disolución: la eficacia de disolución se evalúa a los 10 minutos de comenzado el ensayo, de manera que su capacidad discriminante para cuantificar variaciones en la velocidad de disolución, cuando éstas suponen un ligero enlentecimiento del proceso, es muy baja.

En la tabla XCI se recogen los resultados estadísticos obtenidos en la comparación de los valores de las características físicas al final del estudio con los valores iniciales.

Excepto en la resistencia a la fractura, se observa que la intensidad de la alteración detectada está en relación directa con la temperatura de almacenamiento: el peso y la velocidad de disolución son menores cuanto mayor es la temperatura de almacenamiento; el tiempo de disgregación es mayor cuanto mayor es la temperatura. La resistencia a la fractura es menor cuanto menor es la temperatura, excepto a 80 y 90°C que no se modifica.

La característica que menos se modifica por acción de la temperatura es el peso de los comprimidos y las que más el tiempo de disgregación y la velocidad de disolución, fundamentalmente si se considera el parámetro t_{70} .

Estabilidad química.

El contenido en principio activo de los comprimidos A-I disminuye con el tiempo y la temperatura de almacenamiento, según se desprende de los datos recogidos en la tabla XCII. En los cromatogramas reproducidos en la figura 44 también se observa que la disminución del contenido en principio activo, a las 66 semanas de almacenamiento, es mayor cuanto mayor es la temperatura ambiente. Esta degradación es estadísticamente significativa pues existe una correlación entre la cantidad remanente de Amonafide.2HCl en los comprimidos y el tiempo de almacenamiento para todas las temperaturas, especialmente a las más elevadas, en las que más del 80% de la variación en la cantidad de principio activo es explicada por el aumento en el tiempo de exposición (tabla XCIII). Ahora bien, no se puede discernir si esta evolución sigue una cinética de orden cero o uno, ni a través de la comparación de las varianzas respectivas de regresión, ni a través de la evaluación de la bondad del ajuste. Se selecciona el orden cero dada la sencillez del modelo.

Del cálculo de los parámetros de la expresión matemática que define a la cinética de degradación de orden cero (tabla XCIV), se desprende que la velocidad de degradación varía en función de la temperatura de almacenamiento. En efecto, los valores de k a 80 y 90°C (0,189 y 0,199 mg/semana, respectivamente) son significativamente mayores que los obtenidos a 60 y 70°C, que son del mismo orden (0,07 mg/semana). Esta marcada diferencia entre las temperaturas más altas y las más bajas usadas en el estudio también se aprecia en los perfiles de degradación del Amonafide representados en la figura 45.

No se puede aplicar la ecuación de Arrhenius, pues no existe una correlación significativa entre las constantes de degradación y la inversa de la temperatura (tabla XCV). Esto se intuye fácilmente al hacer la representación gráfica de estos pares de valores (figura 46).

Después de 66 semanas de almacenamiento a 60 y 70°C, la degradación del Amonafide es, solamente, un 2,85%, en tanto que a 80 y 90°C supone un 7,72 y un 8,26%, respectivamente.

Tabla LXXXIX: Dimensiones, peso y friabilidad de los comprimidos A-I: valores medios y coeficientes de variación, excepto para la friabilidad.

	60°C		70°C		80°C		90°C	
DIMENSIONES: a (cm)								
Semanas	\bar{x}	e.v.	\bar{x}	e.v.	\bar{x}	e.v.	\bar{x}	e.v.
0	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,105	0,00%
6	1,105	0,00%	1,106	0,20%	1,105	0,00%	1,104	0,20%
18	1,105	0,32%	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,105	0,00%
30	1,104	0,38%	1,104	0,20%	1,105	0,32%	1,106	0,38%
48	1,105	0,00%	1,106	0,20%	1,104	0,20%	1,104	0,20%
66	1,104	0,20%	1,105	0,32%	1,106	0,38%	1,105	0,00%
DIMENSIONES: b (cm)								
Semanas	\bar{x}	e.v.	\bar{x}	e.v.	\bar{x}	e.v.	\bar{x}	e.v.
0	0,384	1,56%	0,384	1,56%	0,384	1,56%	0,384	1,56%
6	0,387	0,71%	0,384	0,58%	0,382	0,72%	0,384	1,09%
18	0,386	0,58%	0,383	0,72%	0,385	1,30%	0,387	0,71%
30	0,384	0,58%	0,386	1,08%	0,384	0,58%	0,385	0,92%
48	0,384	1,09%	0,387	0,71%	0,386	0,58%	0,385	0,92%
66	0,383	0,72%	0,382	0,72%	0,384	0,58%	0,387	0,71%
PESO (mg)								
Semanas	\bar{x}	e.v.	\bar{x}	e.v.	\bar{x}	e.v.	\bar{x}	e.v.
0	407,50	1,11%	407,50	1,11%	407,50	1,11%	407,50	1,11%
6	406,43	0,97%	406,30	0,94%	398,94	1,04%	382,53	0,91%
12	405,90	1,91%	405,42	0,70%	390,35	0,88%	372,60	0,84%
18	408,11	1,26%	404,66	0,93%	384,16	1,17%	369,79	1,08%
24	406,88	0,76%	403,56	0,79%	378,00	1,25%	368,94	0,93%
30	407,38	0,94%	401,72	0,66%	373,07	0,94%	366,69	0,66%
36	406,26	0,84%	396,85	1,12%	374,58	1,29%	368,99	0,88%
42	406,75	0,61%	396,66	0,48%	374,14	0,31%	368,61	0,41%
48	408,60	0,65%	396,49	0,84%	373,60	0,91%	369,02	0,71%
54	406,63	0,44%	394,61	0,70%	374,08	0,41%	368,98	0,48%
60	404,32	0,72%	392,34	1,00%	373,88	0,95%	367,49	0,66%
66	404,41	0,46%	389,56	0,69%	372,64	0,83%	367,48	0,70%
FRIABILIDAD								
Semanas	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}				
0	0,25*	0,25*	0,25*	0,25*				
6	0,28*	0,27*	0,24*	0,22*				
12	0,27*	0,26*	0,24*	0,24*				
18	0,25*	0,01*	0,23*	0,21*				
24	0,22*	0,22*	0,23*	0,19*				
30	0,25*	0,25*	0,26*	0,19*				
36	0,30*	0,27*	0,25*	0,18*				
42	0,22*	0,21*	0,19*	0,16*				
48	0,28*	0,24*	0,17*	0,15*				
54	0,30*	0,28*	0,19*	0,17*				
60	0,35*	0,31*	0,21*	0,19*				
66	0,42*	0,36*	0,26*	0,16*				

Tabla XC: Resistencia a la fractura, tiempo de disgregación y velocidad de disolución (t_{70} y ED^{10}) de los comprimidos A-I: valores medios y coeficiente de variación.

	60° C		70° C		80° C		90° C	
RESISTENCIA A LA FRACTURA (Kg Erweka)								
Semanas	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.
0	8,75	4,00%	8,75	4,00%	8,75	4,00%	8,75	4,00%
6	8,05	11,68%	8,70	9,77%	8,90	11,35%	8,95	14,97%
12	8,65	9,05%	8,90	9,01%	9,05	9,04%	9,10	8,38%
18	9,05	3,60%	8,75	4,52%	8,95	6,06%	9,10	3,69%
24	8,50	4,65%	8,50	4,65%	8,85	3,22%	8,90	1,54%
30	9,20	7,28%	9,10	0,82%	8,65	0,49%	9,25	0,47%
36	10,10	6,21%	10,05	4,45%	9,40	3,03%	8,90	6,47%
42	9,05	3,60%	8,90	4,70%	8,80	6,16%	9,05	3,60%
48	8,00	7,97%	7,65	6,78%	8,60	6,03%	8,45	4,86%
54	7,45	4,98%	7,70	5,81%	8,20	7,89%	7,95	5,17%
60	6,70	5,82%	7,70	5,33%	8,20	2,55%	8,30	8,88%
66	6,20	5,97%	7,00	4,48%	8,40	5,16%	8,65	3,24%
DISGREGACION (min)								
Semanas	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.
0	13,42	6,41%	13,42	6,41%	13,42	6,41%	13,42	6,41%
6	17,34	8,75%	22,50	6,10%	23,41	4,51%	29,09	3,37%
12	22,18	6,53%	21,89	6,71%	22,86	6,01%	36,31	4,30%
18	20,59	5,37%	21,39	5,94%	24,39	2,47%	37,27	4,65%
24	19,99	4,30%	20,39	5,88%	27,35	8,40%	40,27	3,25%
30	17,54	9,33%	20,20	5,82%	36,65	3,41%	41,10	4,06%
36	19,38	7,88%	23,22	2,82%	35,91	6,38%	48,09	2,48%
42	19,31	2,43%	21,42	3,09%	35,18	4,28%	49,60	2,98%
48	17,25	12,42%	20,67	5,64%	31,83	6,25%	48,56	8,47%
54	20,24	7,98%	19,09	9,27%	32,59	2,18%	54,24	2,84%
60	16,49	10,32%	20,58	5,07%	29,53	4,40%	53,82	7,46%
66	15,51	12,19%	20,64	6,30%	34,71	5,24%	65,23	22,95%
t_{70} (min)								
Semanas	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.
0	18,59	14,69%	18,59	14,69%	18,59	14,69%	18,59	14,69%
6	36,87	2,33%	40,34	0,94%	45,81	1,94%	83,85	8,59%
12	-	-	-	-	-	-	71,39	6,64%
18	36,08	1,55%	38,06	7,16%	49,97	3,78%	88,35	9,98%
30	43,10	4,66%	37,66	7,20%	62,70	7,18%	93,84	10,93%
48	24,98	9,97%	28,78	2,15%	50,02	12,33%	106,55	2,27%
66	28,94	11,82%	35,47	9,11%	66,30	10,92%	110,95	6,06%
ED_{10} (%)								
Semanas	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.	\bar{X}	c.v.
0	24,27	12,15%	24,27	12,15%	24,27	12,15%	24,27	12,15%
6	16,60	7,89%	13,49	10,08%	13,51	4,22%	12,61	2,38%
12	-	-	-	-	-	-	14,14	3,46%
18	16,16	11,82%	14,31	6,85%	14,90	4,70%	13,41	2,83%
30	15,05	8,44%	14,88	7,80%	13,40	9,10%	12,79	4,93%
48	23,10	11,95%	19,31	8,18%	16,19	7,41%	9,48	2,00%
66	18,77	10,49%	14,88	15,07%	14,76	2,91%	13,45	9,74%

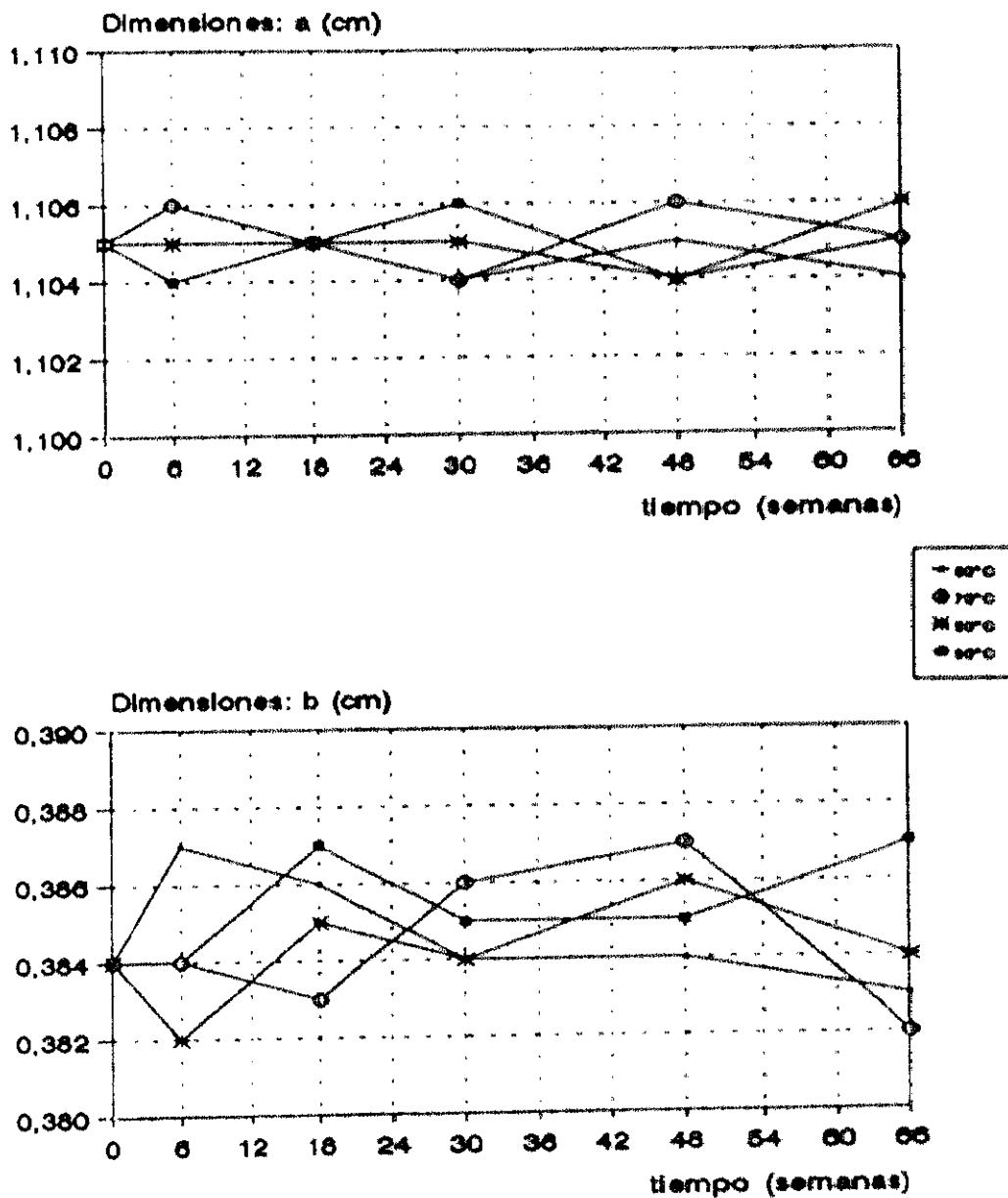


Figura 41. Representación gráfica de los valores de las dimensiones de los comprimidos A-I frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

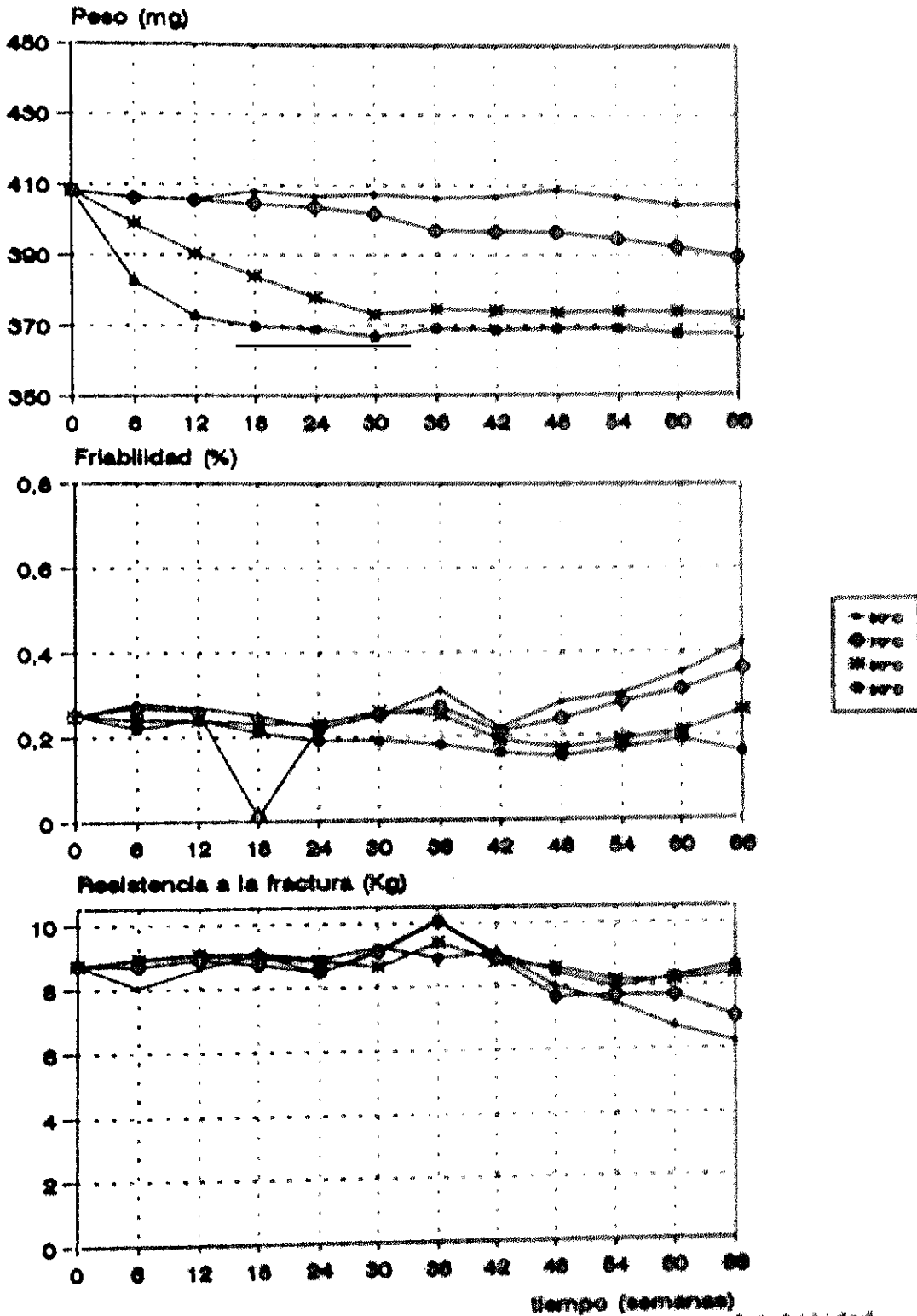


Figura 42. Representación gráfica de los valores de peso, friabilidad y resistencia a la fractura de los comprimidos A-I frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

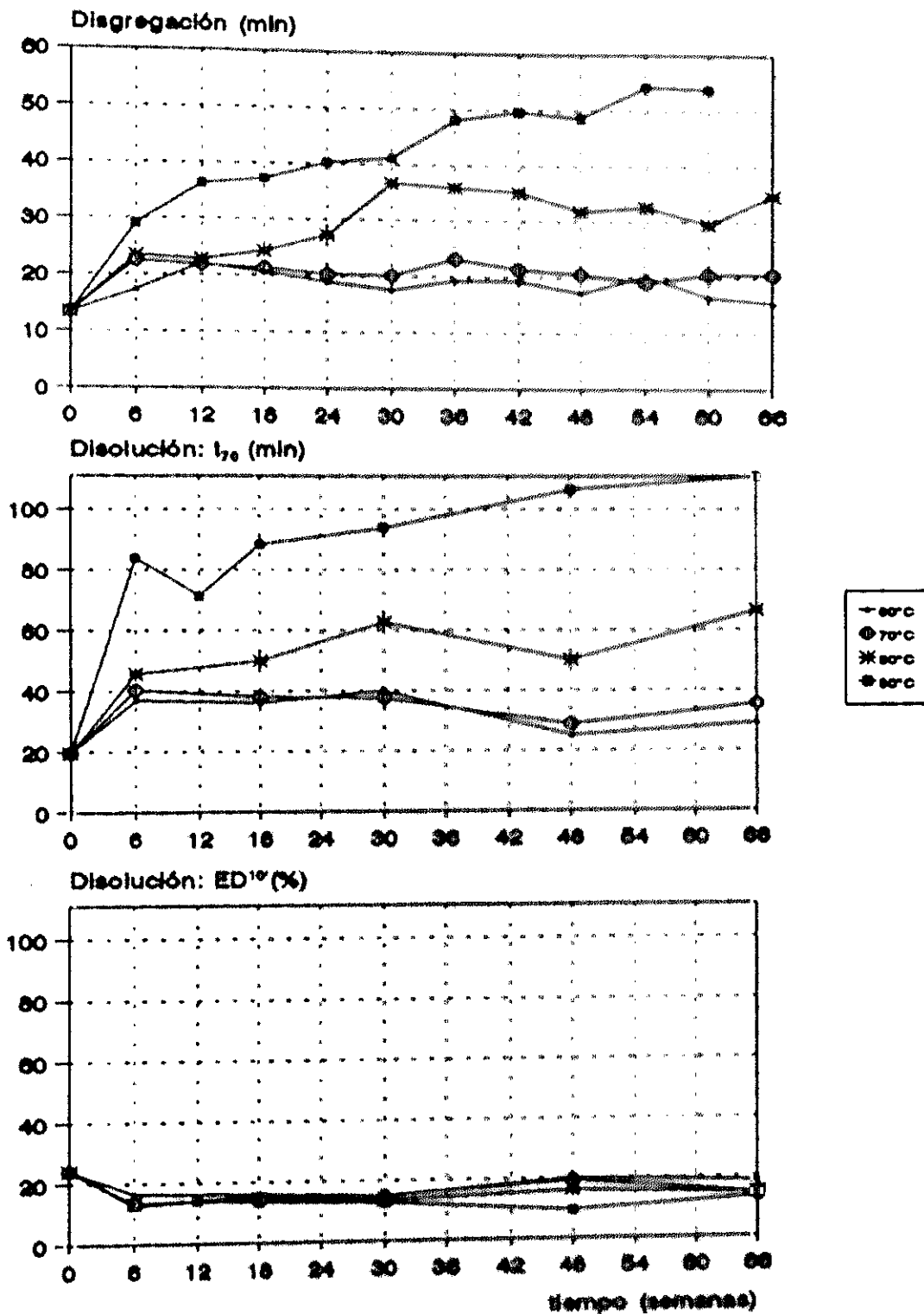


Figura 43. Representación gráfica de los valores de tiempo de disgregación, t_{70} y ED^{10} de los comprimidos A-I frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

Tabla XCI: Resultados estadísticos obtenidos en la comparación de los valores de las características físicas de los comprimidos A-I correspondientes al último muestreo con los valores iniciales de las mismas.

	t°	n	X	s	t		t respecto inicial
					Snedecor	Student	
PESO (mg)	t°	20	407,50	4,53			
	60°C	20	404,41	1,86	5,99**	2,77*	99,24
	70°C	20	389,56	2,70	2,81*	15,15**	95,81
	80°C	20	372,64	3,10	2,14	28,34**	91,45
	90°C	20	367,48	2,56	3,14**	34,34**	90,18
R. FRACTURA (Kg)	t°	5	8,75	0,35			
	60°C	5	6,20	0,37	1,10	11,13**	70,86
	70°C	5	7,00	0,31	1,93	8,37**	80,00
	80°C	5	8,40	0,45	1,65	1,36	100,00
	90°C	5	8,65	0,20	1,54	0,49	100,00
T. DISGREGACION (min)	t°	6	13,42	0,86			
	60°C	6	15,51	1,89	4,98	2,47*	115,57
	70°C	6	20,64	1,30	2,29	11,34**	153,80
	80°C	6	34,71	1,82	4,49	25,85**	258,64
	90°C	6	65,23	14,97	302,38**	8,46**	486,07
t70 (min)	t°	6	18,59	2,73			
	60°C	6	28,94	3,42	1,57	5,79**	155,67
	70°C	6	35,47	3,23	1,40	9,77**	190,80
	80°C	6	66,30	7,24	7,05*	15,10**	356,64
	90°C	6	110,95	6,72	6,07*	31,19**	596,83
E.D. 10' (h)	t°	6	24,27	2,93			
	60°C	6	18,77	1,97	2,25	3,89**	77,34
	70°C	6	14,80	2,23	1,74	6,27**	60,99
	80°C	6	14,76	0,43	48,40**	7,82**	60,82
	90°C	6	13,45	1,31	5,89*	8,22**	55,43

t° = tiempo inicial

*0,05 > P > 0,01

**P < 0,01

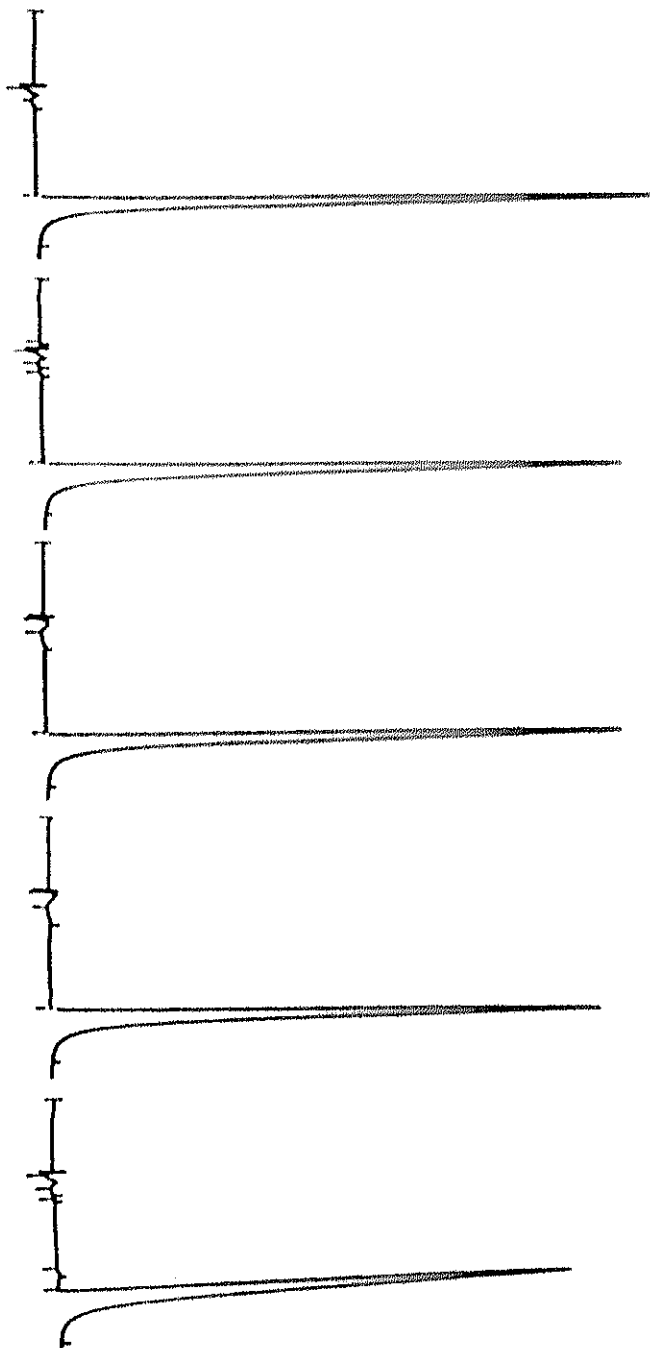


Figura 44. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide en los comprimidos A-I almacenados durante 66 semanas:

- a/ Patrón de Amonafide.2HCl.
- b/ 60°C.
- c/ 70°C.
- d/ 80°C.
- e/ 90°C.

Tabla XCII: Contenido en Amonafide de los comprimidos A-I: valores medios.

Semanas	n	60°C	70°C	80°C	90°C
		x (mg)	x (mg)	x (mg)	x (mg)
0	20	197,56	197,56	197,56	197,56
6	4	192,23	191,16	190,01	189,99
12	4	191,97	190,92	190,27	184,66
18	4	187,96	187,31	186,26	182,30
24	4	192,35	190,12	188,53	183,72
30	4	190,55	187,19	183,32	182,89
36	4	188,25	184,78	181,20	179,04
42	4	188,13	185,45	180,90	177,39
48	4	188,74	186,42	181,07	177,00
54	4	187,74	186,18	180,83	177,02
60	4	186,76	185,80	180,20	176,73
66	4	184,93	184,46	179,79	176,09

Tabla XCIII: Correlación de la cantidad de Amonafide frente al tiempo y mejor ajuste (orden cero, orden uno) de los datos de estabilidad química de los comprimidos A-I.

	60°C	70°C	80°C	90°C
r	0,823**	0,747**	0,936**	0,917**
r ²	0,677	0,558	0,875	0,840
σ ² orden cero	3,128	2,258	2,214	2,094
σ ² orden uno	3,110	2,253	2,140	2,012
F	1,00	1,00	1,03	1,04
F (orden cero)	1,55	1,31	1,22	1,66
χ ² (orden uno)	31,18	22,53	21,40	20,12
Mejor ajuste	0/1	0/1	0/1	0/1

Tabla XCIV: Parámetros de la ecuación de ajuste seleccionada.

	60°C	70°C	80°C	90°C
modelo seleccionado	$Q = Q_0 - k t$			
Q ₀ (mg)	191,37	189,55	190,89	188,00
σ (mg)	0,74	0,78	1,14	1,49
k (mg/semanas)	0,070	0,069	0,189	0,199
σ (mg/semanas)	0,015	0,020	0,023	0,027

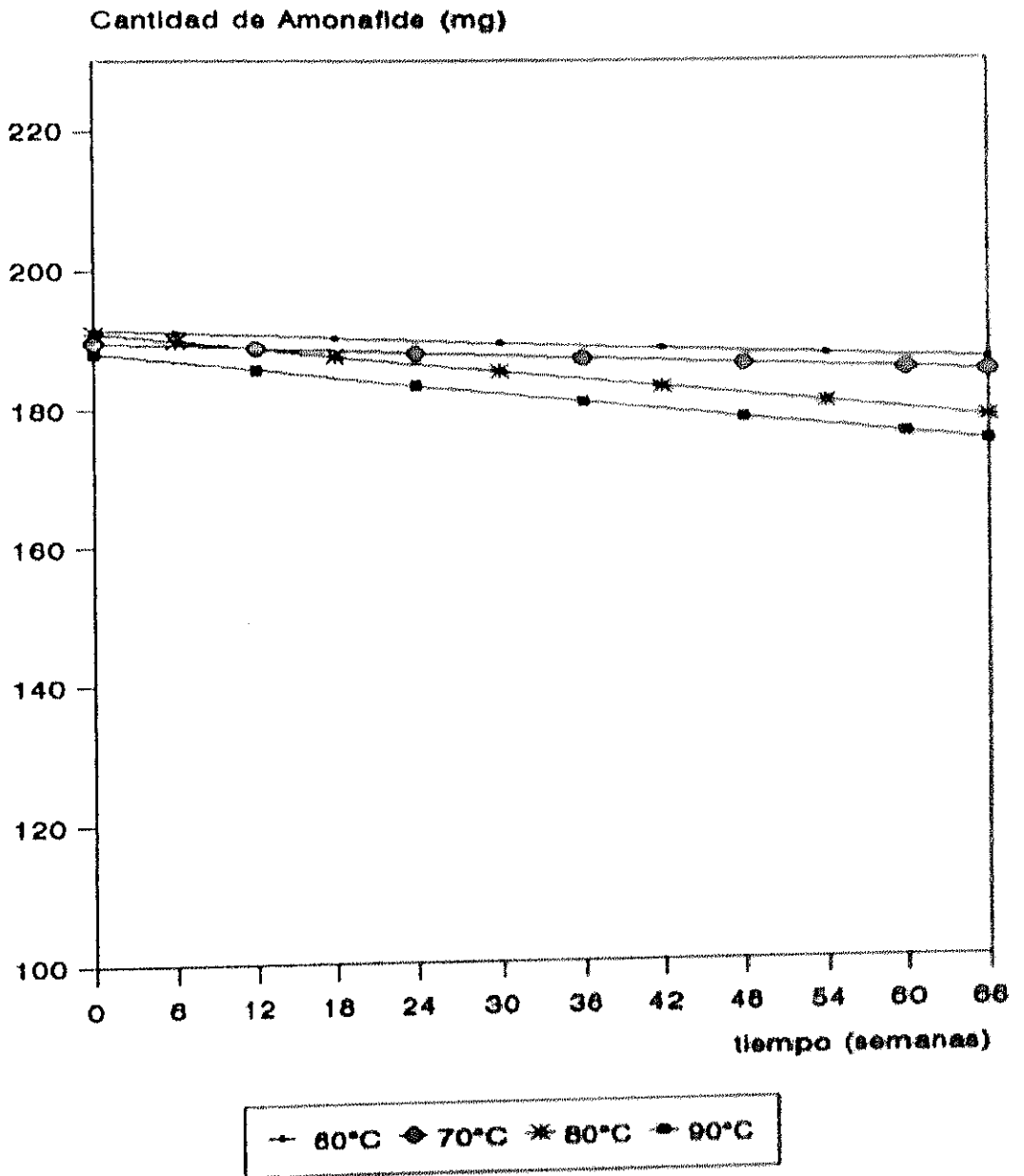


Figura 45. Perfil de degradación del Amonafide incluido en los comprimidos A-I para las distintas temperaturas: valores estimados.

Tabla XCV: Ecuación de Arrhenius: correlación entre las constantes de degradación y la inversa de la temperatura absoluta. Porcentaje de principio activo remanente a las 66 semanas de exposición a 60, 70, 80 y 90°C.

ARRHENIUS	r	0,897
	r ²	0,805
Q 66 semanas (%)	60°C	97,15
	70°C	97,16
	80°C	92,28
	90°C	91,74

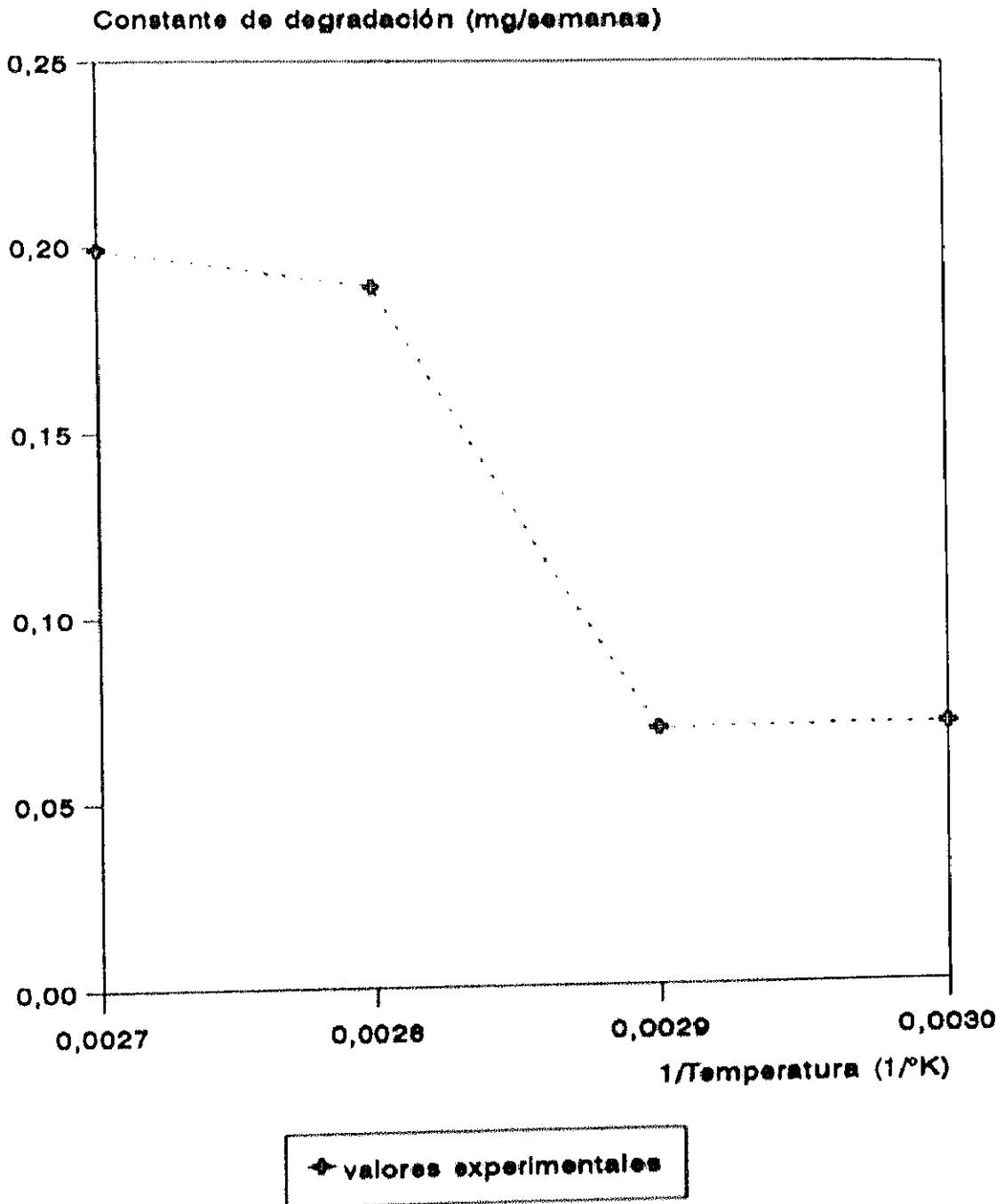


Figura 46. Constante de degradación del Amonafide incluido en los comprimidos A-I frente a la inversa de la temperatura absoluta.

COMPRIMIDOS A-II

Estabilidad física.

En los comprimidos A-II se observa un ligero oscurecimiento que aumenta de intensidad con el tiempo y la temperatura de almacenamiento, este oscurecimiento se localiza en la periferia del comprimido. De forma paralela, la coloración amarillo-anaranjada de la parte central también aumenta de intensidad con el tiempo y la temperatura de almacenamiento (figura 40).

Las dimensiones de los comprimidos no se modifican de forma apreciable durante el estudio, ni por el efecto de la temperatura ni por el del tiempo de almacenamiento (tabla XCVI y figura 47).

El peso de estos comprimidos A-II disminuye con el almacenamiento, disminución que es tanto más acusada cuanto mayor es la temperatura ambiental (tabla XCVI y figura 48).

La pérdida de peso de los comprimidos A-II se debe a la pérdida de agua de sus componentes. La variación en el contenido en agua de los comprimidos con el tiempo y la temperatura de almacenamiento puede ser debida: a la deshidratación del Emcompress y al comportamiento higroscópico del Amonafide.2HCl, del Avicel y de la PVP. La deshidratación del Emcompres, excipiente mayoritario, guarda una relación inversa con el aumento de la temperatura de almacenamiento y está catalizada por la humedad relativa ambiental, de manera que a mayor temperatura, la humedad relativa ambiental es menor y la deshidratación es más lenta (26). Por el contrario, la pérdida de agua del Amonafide.2HCl, del Avicel y de la PVP, con un comportamiento higroscópico, es paralela al aumento de la temperatura de almacenamiento. Estas diferencias en cuanto a la magnitud de la pérdida de agua en función de la temperatura pueden justificar que los valores de peso a 80 y 90°C sean semejantes durante el almacenamiento.

En cuanto a la resistencia mecánica de los comprimidos no se puede destacar una modificación clara de la misma con el almacenamiento. Los valores de friabilidad obtenidos a las distintas temperaturas presentan la misma evolución a lo largo del tiempo: al principio del estudio disminuyen ligeramente y al final son similares o algo superiores al valor inicial (tabla XCVI y figura 48). Los valores de resistencia a la fractura se muestran más irregulares que los de friabilidad, de manera que no se puede señalar una evolución de los mismos, ni ascendente ni descendente, con el almacenamiento (tabla XCVII y figura 48).

Para entender esta estabilidad de la resistencia mecánica se pueden considerar dos aspectos: primero, el efecto endurecedor que se debiera producir como consecuencia de la pérdida de agua del comprimido, especialmente por parte de la PVP (aglutinante) y, segundo, el reblandecimiento del comprimido, que compensaría al efecto anterior, debido a la deshidratación del Emcompress a temperaturas por encima de 40-45°C y en presencia de sustancias higroscópicas.

Los tiempos de disgregación no se modifican con el almacenamiento a 60°C; aumentan ligeramente a partir de las 42 semanas a 70°C; aumentan de forma más acusada, especialmente tras 18 semanas de exposición, a 80°C y se disparan, en sentido ascendente, desde el principio del estudio de estabilidad a 90°C (tabla XCVII y figura 49).

Estas modificaciones en los valores de disgregación no se pueden justificar ni a partir de los datos de peso ni de los de resistencia a la fractura, por lo que se puede pensar que, por efecto de la temperatura, se modifica la capacidad disgregante del Avicel, aumentando de forma drástica el tiempo de disgregación.

La velocidad de disolución de los comprimidos A-II varía con el almacenamiento, detectándose a través de los dos parámetros de disolución estudiados, pero con distinta intensidad (tabla XCVII y tabla 49).

El entortecimiento de la disolución del principio activo a las

temperaturas de almacenamiento de 80 y 90°C se puede deber al incremento en el tiempo de disgregación. A 60 y 70°C no se detecta este paralelismo entre disgregación y velocidad de disolución; en estas temperaturas no hay apenas modificación de la disgregación con el almacenamiento, pero, sin embargo, hay una significativa pérdida de agua que aumenta la avidéz del principio activo hidrosoluble (Amonafide.2HCl) por el medio acuoso, lo que favorece su disolución.

La influencia de las distintas temperaturas de trabajo en cada una de las características físicas de los comprimidos A-II se puede observar a través de los resultados obtenidos al comparar los valores del último muestreo con los iniciales y expuestos en la tabla XCVIII.

La única característica física que no se modifica a ninguna de las temperaturas empleadas es la resistencia a la fractura. En este sentido, cabe decir que la disminución detectada estadísticamente a las 66 semanas de almacenamiento a 60°C no es significativa si se consideran las fluctuaciones que se detectan en esta característica física a lo largo de todo el estudio.

En las demás características, sí se observa una mayor alteración con el aumento de la temperatura. El peso disminuye al aumentar la temperatura, aunque 80 y 90°C ejercen un efecto similar. El tiempo de disgregación aumenta al aumentar la temperatura, pero este aumento solo se detecta a partir de los 70°C ya que los valores obtenidos a 60°C no difieren significativamente de los iniciales. Se denota también una gran influencia del almacenamiento a 90°C. La velocidad de disolución disminuye al aumentar la temperatura, pero respecto al valor obtenido a tiempo inicial, la velocidad de disolución es mayor a 60 y 70°C y menor a 80 y 90°C. En este caso, el efecto del almacenamiento de los comprimidos a 90°C resalta del efecto de las demás temperaturas en los valores del parámetro t_{70} .

Las características físicas que más sufren la influencia del almacenamiento a elevadas temperaturas son la disgregación y la

disolución de los comprimidos.

Estabilidad química.

Los valores de contenido en principio activo recogidos en la tabla IC disminuyen con el tiempo y la temperatura de almacenamiento. Esta disminución también se observa al analizar los cromatogramas obtenidos en el último muestreo y reproducidos en la figura 50.

En efecto, se detecta degradación y una correlación estadísticamente significativa entre el contenido en Amonafide.2HCl y el tiempo de almacenamiento para todas las temperaturas empleadas en el estudio (tabla C). El valor de coeficiente de determinación de los pares de valores obtenido a 90°C es el más alto de todos (0,815), mientras que el más bajo se obtiene a los 70°C (0,456). El ajuste de los datos experimentales a una cinética de degradación de orden cero y de orden uno proporciona varianzas de la regresión que no difieren una de otra estadísticamente. Por otro lado, estos ajustes son buenos, según los resultados del test F-Snedecor para la regresión lineal y según el test v^2 para la no lineal. Por lo tanto, al no poder discernir estadísticamente entre los modelos cinéticos de degradación, orden cero o uno, ni por comparación de las varianzas de la regresión ni por la bondad del ajuste, se selecciona el modelo más sencillo, es decir, el de orden cero.

Tras calcular los parámetros de la expresión matemática propia de la cinética de orden cero (tabla CI), se puede evaluar la influencia de la temperatura sobre la estabilidad química. Así, destacan, en primer lugar, la elevada constante de velocidad de degradación del Amonafide.2HCl cuando los comprimidos A-II se almacenan a 90°C respecto a las demás condiciones y, en segundo lugar, que a 60°C la constante de velocidad de degradación es superior que a 70 y 80°C. Estas diferencias en cuanto a la velocidad de degradación están representadas en la figura 51.

Teniendo en cuenta estos resultados es lógico que no exista una

correlación significativa entre las constantes de degradación y la inversa de la temperatura, como refleja el coeficiente de determinación: sólo el 38,7% de la variación en la constante de degradación es explicado por el aumento de la temperatura (tabla CII). Este hecho queda patente al representar gráficamente estos pares de valores (figura 52). Por lo tanto, no se puede aplicar la ecuación de Arrhenius.

Al final del estudio de estabilidad, la cantidad remanente de principio activo en los comprimidos A-II también marca las diferencias entre las temperaturas de almacenamiento. A los 70°C la degradación calculada es del 3,4%, a 60 y 80°C del 5,85% y 5,35%, respectivamente, y a 90°C del 8,7%.

En ninguna de las condiciones estudiadas se supera el 10% de degradación del Amonafide.

Si se sigue con la hipótesis planteada en el capítulo de la influencia de la humedad relativa ambiental, sobre la posible degradación de principios activos hidrosolubles, como el Amonafide.2HCl, se podría responsabilizar de la inestabilidad química detectada al trasiego de agua en el interior de los comprimidos A-II. Al igual que en el estudio de la estabilidad física de estos comprimidos, hay que considerar la deshidratación del Emcompress, que es más acusada cuanto menor es la temperatura de almacenamiento empleada en el estudio, y que puede aumentar el riesgo de incompatibilidades a elevadas temperaturas siempre y cuando el agua liberada interaccione con el principio activo (26,27,127).

Esta idea está avalada por los resultados obtenidos. Efectivamente, a 60°C la deshidratación del Emcompress es mayor que a 70°C y supera el efecto de la pérdida de agua por las sustancias higroscópicas. Si la deshidratación del Emcompress es más rápida a 60°C que a 70°C y si esta deshidratación acelera la descomposición del principio activo, es lógico que a 60°C la velocidad de degradación del Amonafide sea mayor que a 70°C ($k_{60^{\circ}\text{C}} = 0,1 \text{ mg/semana}$, $k_{70^{\circ}\text{C}} = 0,089 \text{ mg/semana}$).

Tabla XCVI: Dimensiones, peso y friabilidad de los comprimidos A-II: valores medios y coeficientes de variación, excepto para la friabilidad.

	60°C		70°C		80°C		90°C	
DIMENSIONES: a (cm)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,105	0,00%
6	1,106	0,20%	1,105	0,32%	1,105	0,00%	1,105	0,32%
18	1,105	0,32%	1,106	0,20%	1,104	0,20%	1,105	0,00%
30	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,105	0,32%	1,104	0,20%
48	1,105	0,00%	1,104	0,20%	1,106	0,38%	1,105	0,00%
66	1,104	0,38%	1,106	0,20%	1,106	0,20%	1,105	0,00%
DIMENSIONES: b (cm)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	0,355	0,85%	0,355	0,85%	0,355	0,85%	0,355	0,85%
6	0,353	0,78%	0,355	1,00%	0,353	1,27%	0,356	1,18%
18	0,354	0,63%	0,354	1,18%	0,356	0,63%	0,354	0,63%
30	0,356	0,63%	0,356	0,63%	0,355	1,41%	0,354	0,63%
48	0,354	1,18%	0,353	0,78%	0,356	1,18%	0,356	0,63%
66	0,356	0,63%	0,355	1,00%	0,356	0,63%	0,355	1,00%
PESO (mg)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	418,00	1,15%	418,00	1,15%	418,00	1,15%	418,00	1,15%
6	409,28	2,12%	410,78	2,52%	395,98	2,67%	384,91	1,95%
12	415,89	2,18%	408,97	2,60%	386,98	2,68%	379,90	2,13%
18	415,20	2,27%	409,29	2,33%	387,00	2,11%	378,30	2,59%
24	408,82	2,30%	404,40	2,83%	388,95	1,70%	382,39	2,13%
30	412,60	1,85%	405,52	2,35%	385,29	2,16%	377,10	1,86%
36	405,66	2,34%	400,26	2,64%	386,26	1,80%	377,87	1,71%
42	406,44	2,30%	397,40	2,40%	380,65	3,08%	378,71	1,43%
48	403,19	1,82%	399,64	1,80%	381,40	2,49%	379,46	2,30%
54	408,27	1,59%	400,15	2,02%	380,28	2,08%	374,12	2,02%
60	408,87	1,67%	400,20	1,84%	381,65	1,91%	381,02	1,88%
66	405,72	1,79%	400,06	1,64%	378,73	1,82%	378,79	1,99%
FRIABILIDAD								
Semanas	X		X		X		X	
0	0,32%		0,32%		0,32%		0,32%	
6	0,22%		0,21%		0,24%		0,23%	
12	0,22%		0,25%		0,21%		0,24%	
18	0,20%		0,19%		0,28%		0,23%	
24	0,26%		0,23%		0,25%		0,27%	
30	0,67%		0,29%		0,22%		0,28%	
36	0,29%		0,22%		0,27%		0,33%	
42	0,28%		0,34%		0,32%		0,34%	
48	0,30%		0,29%		0,26%		0,30%	
54	0,40%		0,30%		0,33%		0,36%	
60	0,32%		0,36%		0,32%		0,33%	
66	0,39%		0,38%		0,35%		0,37%	

Tabla XCVII: Resistencia a la fractura, tiempo de disgregación y velocidad de disolución (t_{70} y $ED^{10'}$) de los comprimidos A-II: valores medios y coeficiente de variación.

	60° C		70° C		80° C		90° C	
RESISTENCIA A LA FRACTURA (Kg Erveka)								
Semanas	X	a.v.	X	a.v.	X	a.v.	X	a.v.
0	7,90	4,81%	7,90	4,81%	7,90	4,81%	7,90	4,81%
6	9,25	9,93%	9,25	6,89%	7,55	12,26%	7,75	9,40%
12	8,05	11,49%	7,85	11,39%	7,40	14,65%	7,75	10,70%
18	7,95	13,60%	8,50	6,58%	7,95	9,79%	8,00	7,97%
24	9,25	6,34%	9,10	7,91%	8,25	9,82%	8,35	5,44%
30	1,40	46,57%	6,05	5,39%	9,05	6,59%	8,90	8,57%
36	7,55	8,24%	7,95	6,44%	9,30	4,81%	8,50	2,08%
42	6,65	11,15%	2,65	40,90%	6,45	22,33%	6,40	21,68%
48	7,75	3,95%	9,40	3,03%	8,05	3,40%	7,50	2,36%
54	6,35	4,49%	8,95	2,34%	7,60	7,92%	7,85	6,98%
60	8,25	13,03%	7,55	2,77%	8,50	5,88%	7,80	4,75%
66	6,15	6,16%	7,40	5,65%	7,60	5,50%	8,00	3,83%
DISGREGACION (min)								
Semanas	X	a.v.	X	a.v.	X	a.v.	X	a.v.
0	5,50	2,18%	5,50	2,18%	5,50	2,18%	5,50	2,18%
6	5,26	4,35%	5,15	4,95%	6,31	5,78%	17,54	6,16%
12	4,70	1,06%	5,07	1,78%	6,90	13,04%	17,38	6,98%
18	4,93	6,41%	6,05	5,69%	7,99	8,56%	20,57	3,87%
24	4,70	14,41%	6,08	14,29%	13,89	10,69%	23,55	7,25%
30	1,51	40,17%	5,80	19,57%	16,33	12,21%	37,96	2,24%
36	5,49	19,93%	5,89	17,49%	17,67	14,48%	40,17	2,65%
42	5,00	19,73%	5,38	16,87%	19,42	7,87%	42,03	5,94%
48	5,79	12,35%	8,12	10,57%	17,69	12,19%	45,01	2,93%
54	5,43	15,67%	9,22	13,49%	18,16	10,14%	50,94	6,28%
60	6,52	14,23%	9,27	11,11%	16,59	6,26%	45,40	8,96%
66	5,82	8,30%	8,63	12,74%	17,29	5,74%	55,35	6,57%
t_{70} (min)								
Semanas	X	a.v.	X	a.v.	X	a.v.	X	a.v.
0	10,47	14,14%	10,47	14,14%	10,47	14,14%	10,47	14,14%
6	7,70	1,82%	7,07	1,40%	9,31	9,77%	19,18	1,21%
12	-	-	-	-	-	-	22,79	2,58%
18	7,82	7,80%	8,45	14,56%	11,04	3,11%	26,32	2,92%
30	1,86	22,58%	6,73	10,70%	14,52	10,62%	36,61	2,76%
48	6,49	4,31%	12,32	3,17%	15,03	8,02%	58,44	4,35%
66	6,18	2,43%	6,67	7,05%	18,76	7,36%	86,14	7,50%
E.D.10' (g)								
Semanas	X	a.v.	X	a.v.	X	a.v.	X	a.v.
0	36,43	9,99%	36,43	9,99%	36,43	9,99%	36,43	9,99%
6	47,64	1,95%	50,46	1,13%	42,38	7,43%	30,63	0,39%
12	-	-	-	-	-	-	25,58	2,38%
18	47,22	6,20%	44,24	11,60%	39,74	3,40%	22,40	3,93%
30	85,73	3,17%	52,61	7,43%	33,75	3,97%	14,07	10,02%
48	50,27	6,01%	35,30	4,02%	19,67	9,61%	10,62	15,44%
66	55,07	1,51%	52,29	4,28%	25,33	7,26%	11,07	7,32%

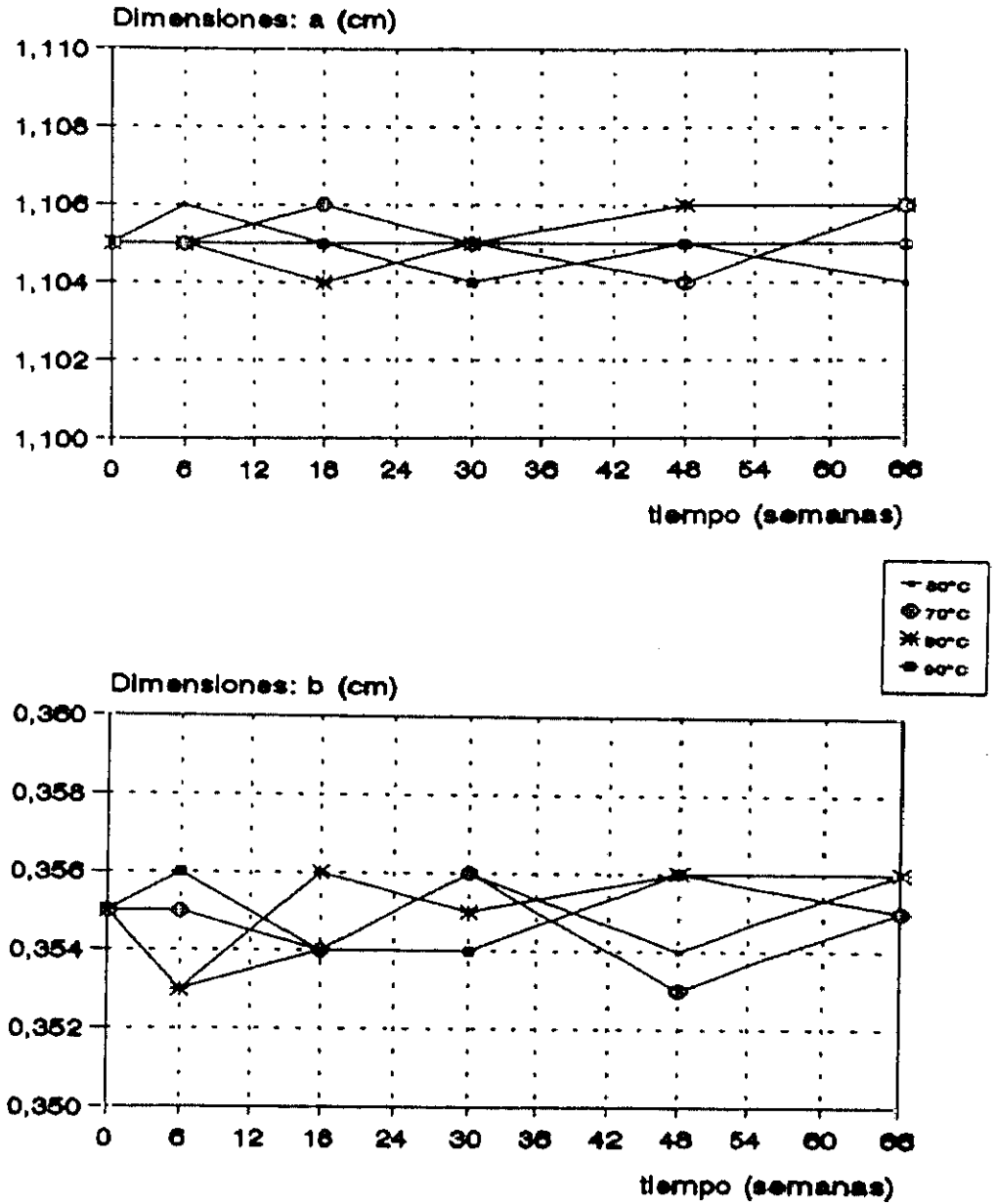


Figura 47. Representación gráfica de los valores de las dimensiones de los comprimidos A-II frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

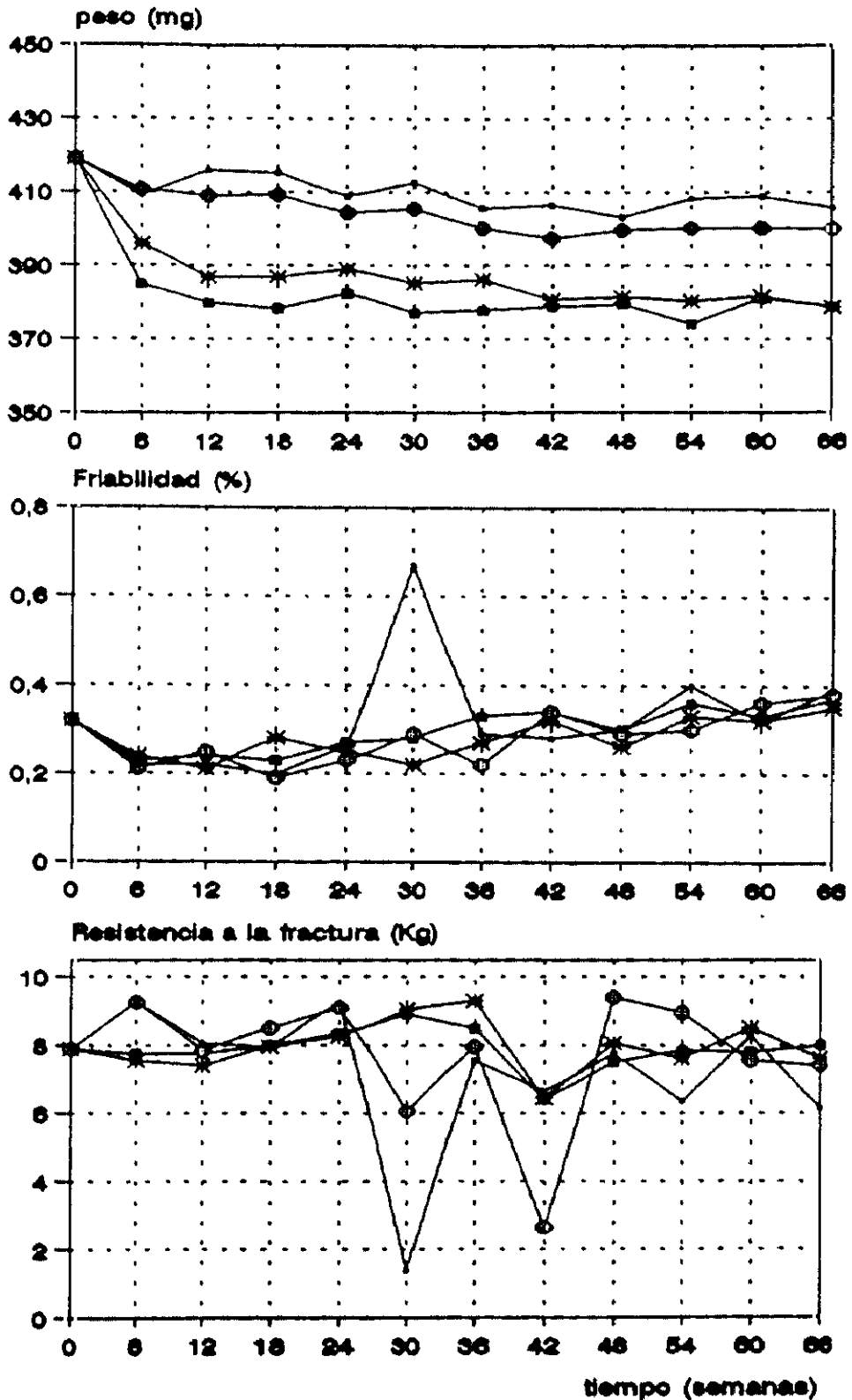


Figura 48. Representación gráfica de los valores de peso, friabilidad y resistencia a la fractura de los comprimidos A-II frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

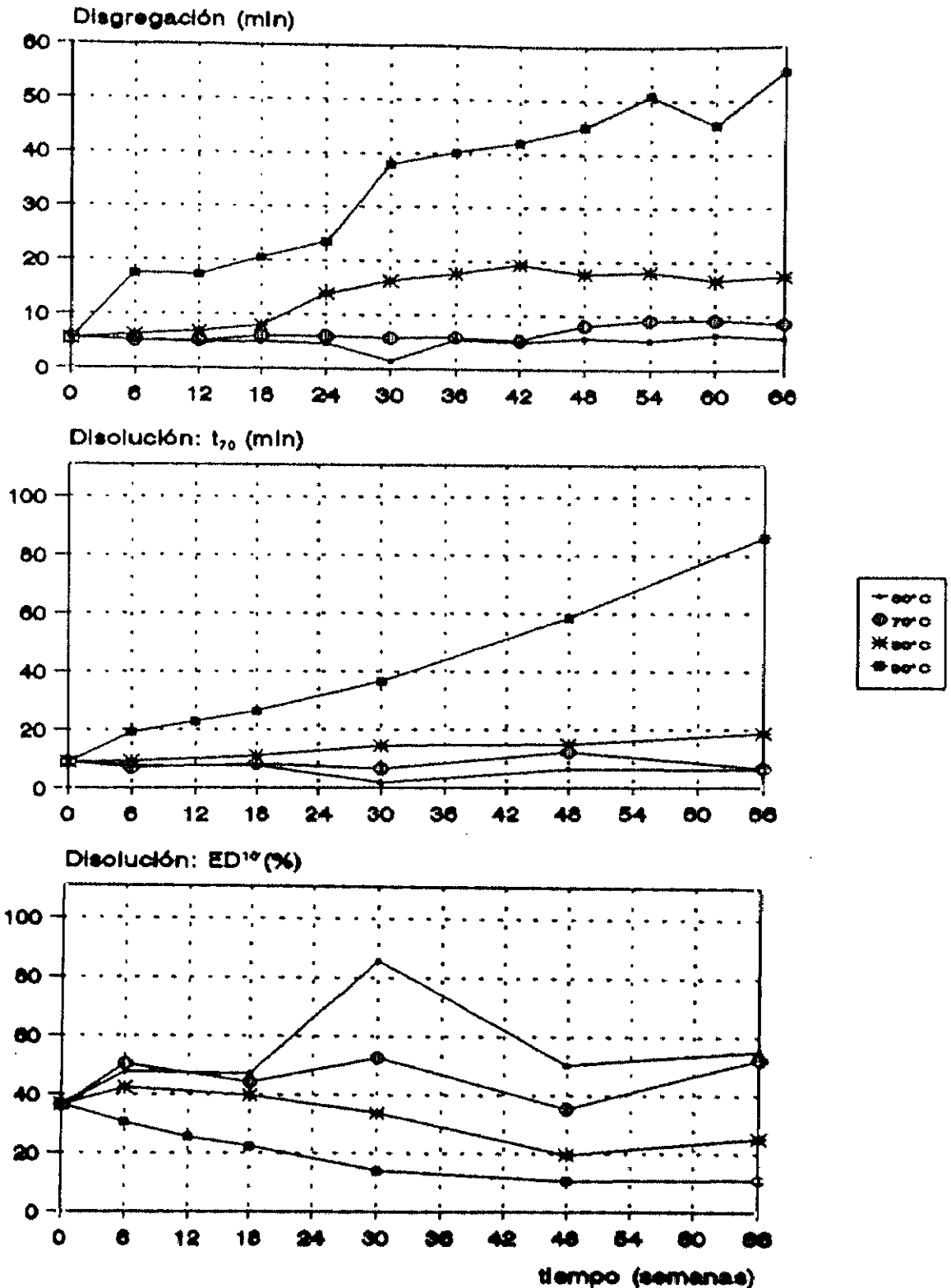


Figura 49. Representación gráfica de los valores de tiempo de disgregación, t_{70} y ED^{10} de los comprimidos A-II frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

Tabla XCVIII: Resultados estadísticos obtenidos en la comparación de los valores de las características físicas de los comprimidos A-II correspondientes al último muestreo con los valores iniciales de las mismas.

	t°	n	X̄	σ	F		t respecta inicial
					Bnedecox	Student	
PESO (mg)	t°	20	418,00	4,80			
	60°C	20	405,72	7,26	2,29*	6,33**	97,06
	70°C	20	400,06	6,58	1,88	9,88**	95,71
	80°C	20	378,63	6,88	2,05	21,02**	90,58
	90°C	20	378,79	7,54	2,47*	19,64**	90,62
R. FRACTURA (Kg)	t°	5	7,90	0,38			
	60°C	5	6,15	0,38	1,00	7,30**	77,85
	70°C	5	7,40	0,42	1,22	1,98	100,00
	80°C	5	7,60	0,42	1,22	1,19	100,00
	90°C	5	8,00	0,31	1,53	0,46	100,00
T. DISGREGACION (min)	t°	6	5,50	0,12			
	60°C	6	5,82	0,48	14,80**	1,54	100,00
	70°C	6	8,63	1,10	76,87**	6,93**	156,91
	80°C	6	17,29	0,99	62,69**	28,85**	314,36
	90°C	6	55,35	3,64	841,08**	33,54**	1006,36
t70 (min)	t°	6	10,47	1,48			
	60°C	6	6,18	0,15	102,54**	7,07**	59,03
	70°C	6	6,67	0,47	9,87*	6,00**	63,71
	80°C	6	18,76	1,38	1,15	10,04**	179,18
	90°C	6	86,14	6,46	19,10**	27,95**	822,73
E.D.10' (%)	t°	6	36,43	3,64			
	60°C	6	55,07	0,83	19,42**	12,22**	151,17
	70°C	6	52,29	2,24	2,64	9,08**	143,53
	80°C	6	25,33	1,84	3,93	6,67**	69,53
	90°C	6	11,07	0,81	20,23**	16,65**	30,39

t° = tiempo inicial

*0,05 > P > 0,01

**P < 0,01

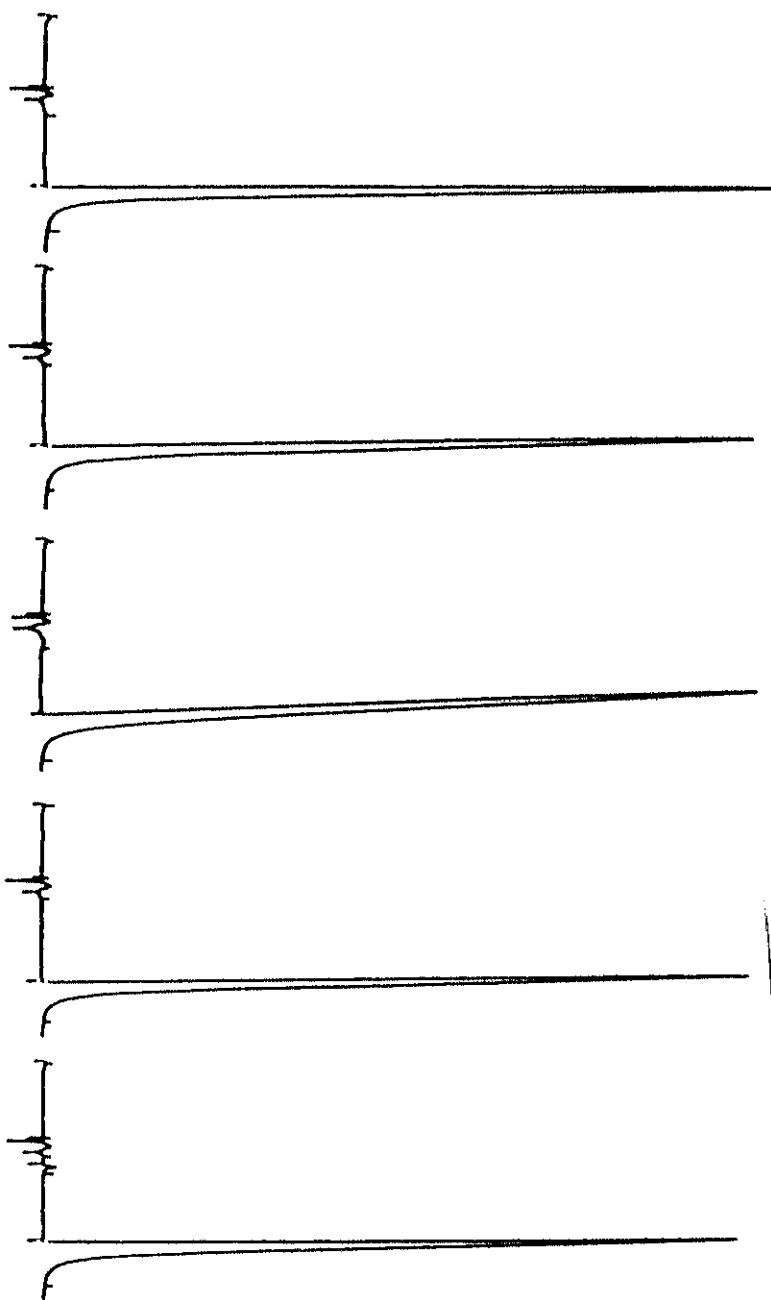


Figura 50. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide en los comprimidos A-II almacenados durante 78 semanas:

- a/ Patrón de Amonafide.2HCl.
- b/ 60°C.
- c/ 70°C.
- d/ 80°C.
- e/ 90°C.

Tabla IC: Contenido en Amonafide de los comprimidos A-II: valores medios.

Semanas	n	60°C	70°C	80°C	90°C
		x (mg)	x (mg)	x (mg)	x (mg)
0	20	199,87	199,87	199,87	199,87
6	4	199,77	197,07	204,53	198,61
12	4	196,15	198,67	202,03	199,95
18	4	206,39	204,09	201,47	201,77
24	4	204,06	199,55	198,20	198,26
30	4	202,29	202,04	198,02	198,06
36	4	197,66	200,79	196,40	193,48
42	4	201,32	201,07	198,59	196,97
48	4	199,65	198,60	196,48	197,30
54	4	199,29	198,83	192,16	191,97
60	4	199,23	197,20	191,32	192,27
66	4	198,66	197,17	194,67	190,37

Tabla C: Correlación de la cantidad de Amonafide frente al tiempo y mejor ajuste (orden cero, orden uno) de los datos de estabilidad química de los comprimidos A-II.

	60°C	70°C	80°C	90°C
r	0,828**	0,676*	0,874**	0,906**
r ²	0,686	0,456	0,765	0,815
σ^2 orden cero	1,302	0,810	0,198	1,066
σ^2 orden uno	1,298	0,812	0,196	1,065
F	1,00	1,00	1,01	1,00
F (orden cero)	0,99	0,43	0,53	0,45
χ^2 (orden uno)	12,98	8,12	1,96	10,65
Mejor ajuste	0/1	0/1	0/1	0/1

Tabla CI: Parámetros de la ecuación de ajuste seleccionada.

	60°C	70°C	80°C	90°C
modelo seleccionado	$Q = Q_0 - k t$			
Q ₀ (mg)	207,87	203,53	202,70	205,18
σ (mg)	1,22	1,20	0,92	1,04
k (mg/semanas)	0,156	0,089	0,139	0,229
σ (mg/semanas)	0,033	0,030	0,024	0,027

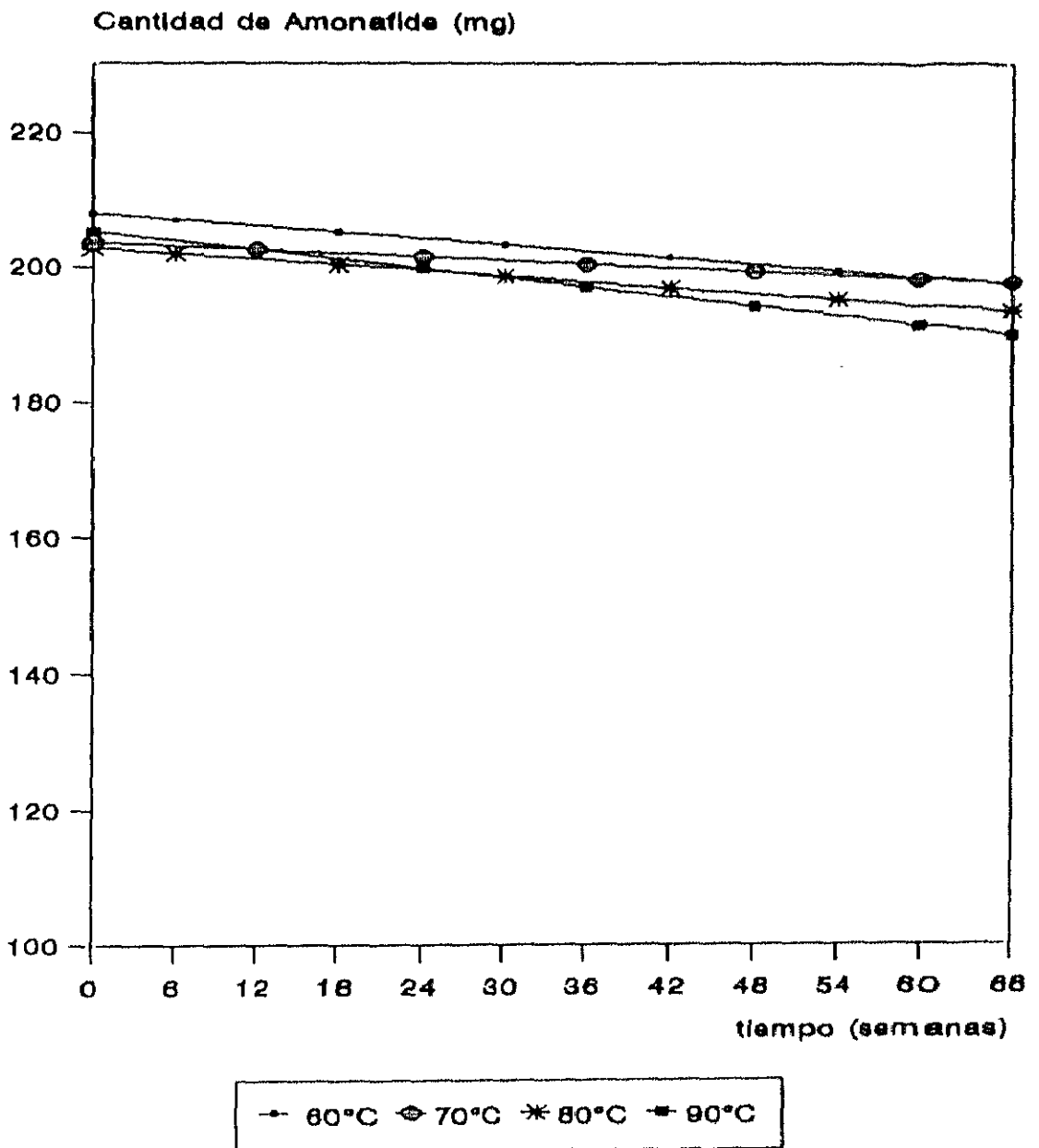


Figura 51. Perfil de degradación del Amonafide incluido en los comprimidos A-II para las distintas temperaturas: valores estimados.

Tabla CII: Ecuación de Arrhenius: correlación entre las constantes de degradación y la inversa de la temperatura absoluta. Porcentaje de principio activo remanente a las 66 semanas de exposición a 60, 70, 80 y 90°C.

ARRHENIUS	r	0,622
	r ²	0,387
Q _{66 semanas} (%)	60°C	94,15
	70°C	96,59
	80°C	94,65
	90°C	91,30

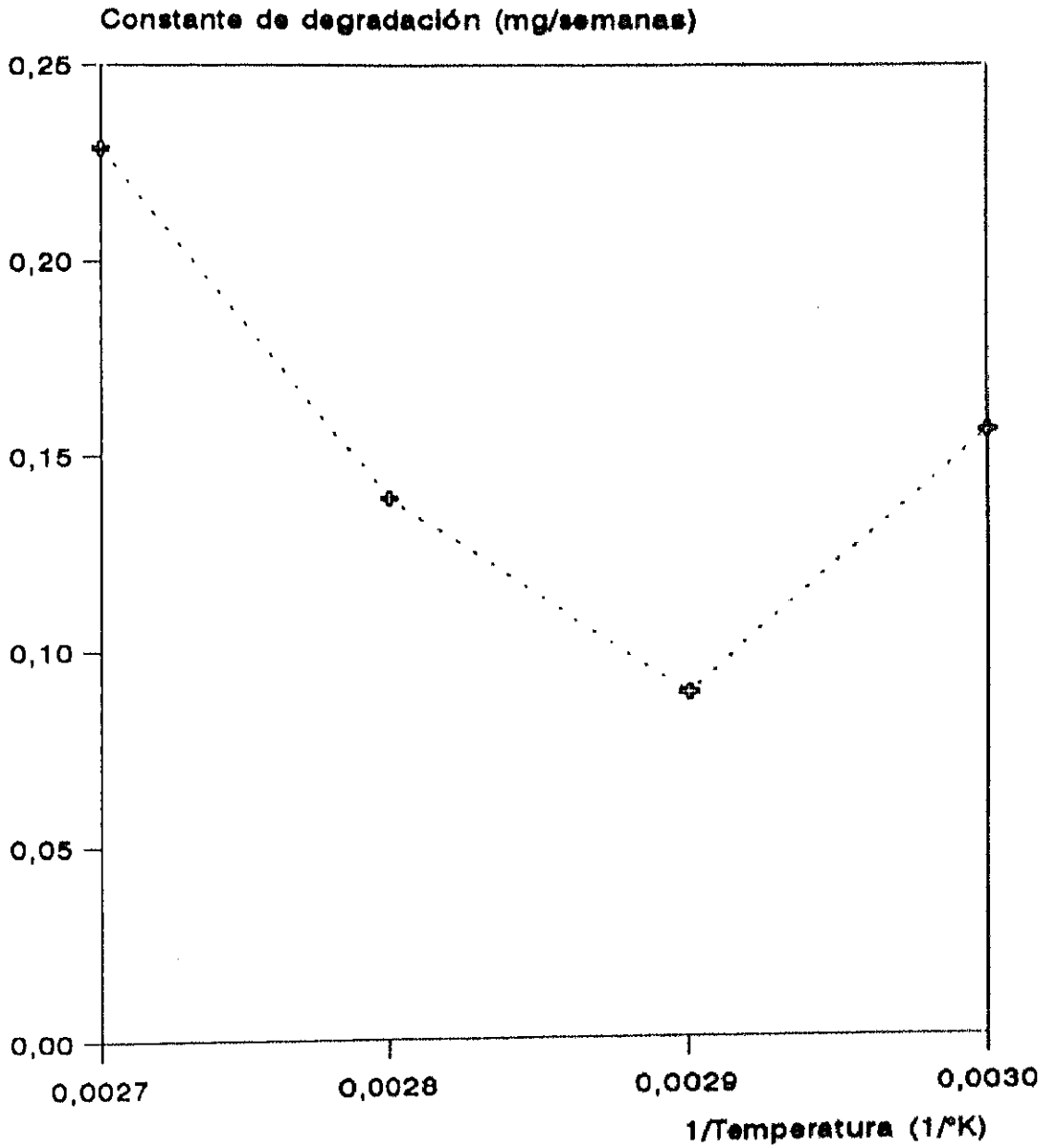


Figura 52. Constante de degradación del Amonafide incluido en los comprimidos A-II frente a la inversa de la temperatura absoluta.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

TÍTULO: DESARROLLO GALENICO DE COMPRIMIDOS DE DOS NUEVOS
ANTICANCEROSOS (MITONAFIDE Y AMONAFIDE.2HCl):
ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

IV
de IV Vol.

Memoria presentada para optar al grado de Doctor por:
MARIA ESTHER GIL ALEGRE

Dirigida por: Dra. Dña. MARIA ANTONIA CAMACHO SANCHEZ
y
Dra. Dña. ANA ISABEL TORRES SUAREZ

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGIA FARMACEUTICA

Madrid, Septiembre 1.995

COMPRIMIDOS A-III

Estabilidad física.

El color de los comprimidos A-III se oscurece paulatinamente con el tiempo y la temperatura de almacenamiento, sobre todo cuando ésta es de 80 y 90°C (figura 40).

Los valores de las dimensiones de los comprimidos no se modifican de forma apreciable con el almacenamiento para todas las temperaturas empleadas (tabla CIII y figura 53).

El peso de los comprimidos A-III disminuye con el almacenamiento, observándose dos comportamientos distintos en cuanto a la evolución de esta característica a lo largo del estudio de estabilidad (tabla CIII y figura 54): uno dado por las temperaturas más bajas y otro dado por las más altas. Los valores obtenidos a 60 y 70°C van disminuyendo lentamente con el almacenamiento, hasta las 24 semanas cuando la temperatura es de 60°C y durante todo el estudio cuando es de 70°C. Los valores obtenidos a 80 y 90°C son prácticamente iguales entre sí y disminuyen rápidamente, para luego, a partir de las 12-18 semanas de almacenamiento, permanecer más o menos constantes.

La pérdida de peso de los comprimidos A-III se debe seguramente a la pérdida de agua de sus componentes. La explicación es la misma que la dada en los comprimidos A-II pues la composición es la misma. Sólo se diferencian en que en los comprimidos A-III esta pérdida es más acusada al no existir la protección conferida por la granulación.

La resistencia mecánica de los comprimidos varía a lo largo del estudio en las cuatro temperaturas de almacenamiento.

La friabilidad de los comprimidos tras una disminución inicial, en general, aumenta con el almacenamiento (tabla CIII y figura 54). Este aumento es muy marcado a partir de las 30 semanas de almacenamiento a 60 y 70°C, mientras que a 80 y 90°C los valores obtenidos al final del

estudio apenas difieren del valor inicial.

Los valores de resistencia a la fractura (tabla CIV y figura 54) fluctúan con el tiempo de almacenamiento. Tras un ligero aumento a todas las temperaturas empleadas, hay una tendencia a disminuir a 60 y 70°C, más acusada a los 60°C. Los valores son análogos al valor inicial a 80°C, y se detecta un ligero ascenso a los 90°C.

Las variaciones de la resistencia mecánica con el tiempo y la temperatura de almacenamiento pueden ser consecuencia del comportamiento de los componentes de los comprimidos A-III según las condiciones de almacenamiento. Por un lado, el Emcompress se deshidrata bajo las cuatro temperaturas empleadas y con más rapidez cuanto mayor es la humedad relativa ambiental, esto es, cuanto menor es la temperatura, como ya se ha dicho. Por otro lado, los componentes higroscópicos del comprimido ceden agua al medio más fácilmente cuanto menor es la humedad relativa ambiental, esto es, cuanto mayor es la temperatura.

Dada la técnica de elaboración de estos comprimidos, estos dos comportamientos están acentuados. De forma que a los 60°C el efecto de la deshidratación del Emcompress es mayor y se traduce en un reblandecimiento del comprimido, y a los 90°C el efecto de la cesión de agua por parte de las sustancias higroscópicas es mayor y se traduce en un endurecimiento.

El tiempo de disgregación (tabla CIV y figura 55) varía con el tiempo de almacenamiento a 60, 80 y 90°C, mientras que permanece invariable a 70°C. El sentido de esta variación depende de la temperatura. Así, a 60°C el tiempo de disgregación disminuye ligeramente en las 24 últimas semanas del estudio. Por el contrario, a 80°C y, especialmente, a 90°C se detecta un pronunciado aumento del tiempo de disgregación desde el principio del estudio.

Llama la atención la semejanza que existe entre la evolución del tiempo de disgregación en los comprimidos A-III y la observada en los comprimidos A-II (figuras 49 y 55), lo cual apoya la posible hipótesis planteada acerca de que las modificaciones son consecuencia de una

posible alteración de la capacidad disgregante del Avicel.

La velocidad de disolución varía con el tiempo y en diferente sentido según la temperatura de almacenamiento: se incrementa a 60 y 70°C y disminuye a 80 y 90°C, acentuándose esta variación en las temperaturas extremas del estudio. Este hecho se refleja en los dos parámetros de disolución empleados (tabla CIV y figura 55). Las diferencias que existen entre ellos son consecuencia de su distinta capacidad discriminante.

Las variaciones en la disolución, cualitativamente, son iguales a las comentadas en los comprimidos A-II. La menor intensidad de las mismas observada en los comprimidos A-III es debida a la técnica de elaboración, ya que, en este caso, la elevada hidrosolubilidad del principio activo contrarresta en mayor medida las modificaciones en la disgregación.

En la tabla CV, se recogen los resultados estadísticos de comparar los datos del último muestreo (66 semanas) de las características físicas comentadas para todas las temperaturas, con los datos iniciales.

En todas ellas se observa una gran influencia de la temperatura de almacenamiento.

Excepto el peso de los comprimidos, las modificaciones detectadas en las características físicas analizadas son de distinto sentido según la temperatura de almacenamiento considerada. Así, los valores obtenidos a las temperaturas más bajas, 60 y 70°C son menores o iguales a los iniciales, siendo esta disminución más acentuada a 60°C. Por el contrario, los valores obtenidos a las temperaturas más altas, 80 y 90°C, son mayores o iguales que los iniciales y este aumento es más acentuado a 90°C. En efecto, la resistencia a la fractura, el tiempo de disgregación y la velocidad de disolución (t_{70} y ED^{10}) son menores que inicialmente a los 60°C y mayores a los 90°C, aumentando de forma progresiva a las temperaturas intermedias del estudio. La variación en el peso de los comprimidos es menor cuanto menor es la temperatura de

almacenamiento.

Las características físicas de los comprimidos A-III que denotan un mayor efecto del almacenamiento son la disgregación y la disolución.

Estabilidad química.

Según se desprende de los resultados expuestos en la tabla CVI, el contenido en principio activo de los comprimidos A-III disminuye con el tiempo y la temperatura de almacenamiento. Al analizar los cromatogramas obtenidos en el último muestreo (figura 56) se aprecia también esta disminución claramente. Al tratar estadísticamente los datos experimentales se detecta degradación a todas las temperaturas de almacenamiento, existiendo una correlación estadísticamente significativa entre el contenido en Amonafide.2HCl y el tiempo de almacenamiento para todas las temperaturas (tabla CVII). En estos comprimidos, el valor más alto de coeficiente de determinación corresponde a los pares de valores obtenidos a 80°C ($r^2 = 0.871$).

A la hora de ajustar los datos experimentales a un modelo cinético de orden cero o uno se obtienen valores de varianzas que no difieren entre sí, estadísticamente, en las cuatro temperaturas estudiadas. Teniendo en cuenta la bondad de estos ajustes se obtiene que: a 60°C, estadísticamente, sólo es bueno el ajuste a una ecuación de orden uno, a 70 y 90°C, ninguno de los dos ajustes es bueno y a 80°C, se obtienen buenos ajustes para los dos tipos de cinéticas. A pesar de los malos ajustes obtenidos a 70 y 90°C y con el fin de poder comparar la estabilidad a las distintas temperaturas se continúa el tratamiento estadístico de los datos obtenidos a las cuatro temperaturas y se selecciona el orden uno como modelo cinético de degradación para todas ellas. A continuación se calculan los parámetros de la ecuación de ajuste correspondiente, recogidos en la tabla CVIII. Del análisis de los valores de k se deduce que la degradación del Amonafide es más lenta cuando la temperatura ambiente es de 70°C y se acelera, de forma progresiva, a 60, 80 y 90°C. Esta evolución de la cantidad remanente de

principio activo según la temperatura empleada también se observa en los perfiles de degradación representados en la figura 57.

Resulta obvio, a la vista de esta representación, que no se puede aplicar la ecuación de Arrhenius, ya que no existe una correlación significativa entre los valores de constantes de degradación y la inversa de la temperatura absoluta de almacenamiento (tabla CIX). En la gráfica resultante de representar estos pares de valores (figura 58) también queda patente esta falta de correlación.

En estos comprimidos A-III el porcentaje de principio activo degradado después de 66 semanas de almacenamiento es de un 7,58% a 70°C y superior al 10% a 60, 80 y 90°C.

La explicación de la inestabilidad del Amonafide frente a la temperatura observada en estos comprimidos A-III es la misma que la dada para los comprimidos A-II, pues presentan igual composición. Si se tiene en cuenta la técnica de elaboración empleada en los comprimidos A-III, se podría pensar que la degradación debiera ser menor que en los A-II al estar facilitada la eliminación del agua, factor de inestabilidad. Sin embargo, la degradación química detectada es mayor, probablemente, porque el principio activo en estos comprimidos está más expuesto a la acción directa de los factores ambientales causa de inestabilidad.

Tabla CIII: Dimensiones, peso y friabilidad de los comprimidos A-III; valores medios y coeficientes de variación, excepto para la friabilidad.

	60°C		70°C		80°C		90°C	
DIMENSIONES: a (cm)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,105	0,00%
6	1,104	0,20%	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,105	0,00%
18	1,105	0,00%	1,105	0,00%	1,104	0,20%	1,105	0,00%
30	1,105	0,00%	1,104	0,20%	1,105	0,32%	1,106	0,38%
48	1,106	0,20%	1,106	0,20%	1,105	0,00%	1,104	0,20%
66	1,106	0,20%	1,105	0,32%	1,105	0,32%	1,104	0,20%
DIMENSIONES: b (cm)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	0,311	1,61%	0,311	1,61%	0,311	1,61%	0,311	1,61%
6	0,312	0,88%	0,311	0,72%	0,312	0,88%	0,313	0,88%
18	0,311	0,72%	0,309	0,72%	0,310	1,14%	0,311	1,34%
30	0,310	1,14%	0,309	0,72%	0,312	0,88%	0,312	0,88%
48	0,311	1,34%	0,310	1,61%	0,312	0,88%	0,312	1,43%
66	0,313	0,88%	0,311	0,72%	0,311	0,72%	0,310	1,14%
PESO (mg)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	376,40	1,19%	376,40	1,19%	376,40	1,19%	376,40	1,19%
6	358,80	2,91%	365,41	2,62%	339,96	3,38%	334,98	3,50%
12	360,81	3,29%	360,73	2,11%	323,98	1,85%	325,37	3,61%
18	359,77	2,85%	356,01	2,12%	324,17	2,29%	322,71	4,24%
24	352,80	2,47%	356,52	2,39%	326,85	1,84%	326,48	1,57%
30	354,67	1,40%	354,30	2,11%	325,80	1,61%	326,42	2,61%
36	353,98	2,86%	348,87	2,05%	325,51	2,15%	428,06	2,66%
42	353,37	2,01%	352,62	2,38%	324,49	2,29%	329,58	2,25%
48	352,55	3,97%	349,06	2,23%	325,23	3,72%	323,18	2,16%
54	352,88	2,01%	346,07	2,69%	323,67	3,29%	322,38	2,71%
60	351,75	2,99%	343,19	2,08%	328,32	2,58%	328,48	3,12%
66	353,42	3,09%	343,55	2,27%	324,36	1,57%	327,14	1,80%
FRIABILIDAD								
Semanas	X		X		X		X	
0	0,42%		0,42%		0,42%		0,42%	
6	0,54%		0,55%		0,50%		0,31%	
12	0,22%		0,31%		0,12%		0,10%	
18	0,26%		0,42%		0,42%		0,14%	
24	0,48%		0,40%		0,43%		0,37%	
30	0,42%		0,41%		0,57%		0,50%	
36	0,53%		0,48%		0,53%		0,52%	
42	0,40%		0,50%		0,60%		0,48%	
48	0,77%		0,68%		0,59%		0,51%	
54	0,70%		0,62%		0,64%		0,57%	
60	2,00%		0,49%		0,57%		0,59%	
66	4,09%		1,47%		0,56%		0,50%	

Tabla CIV: Resistencia a la fractura, tiempo de disgregación y velocidad de disolución (t_{70} y $ED^{10'}$) de los comprimidos A-III: valores medios y coeficiente de variación.

	60° C		70° C		80° C		90° C	
RESISTENCIA A LA FRACTURA (Kg Erveka)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	4,05	5,19%	4,05	5,19%	4,05	5,19%	4,05	5,19%
6	4,00	9,00%	4,00	6,25%	4,10	6,95%	4,40	6,48%
12	4,50	8,78%	4,75	8,32%	5,25	7,53%	6,05	6,46%
18	4,20	12,90%	4,50	11,11%	4,60	9,87%	5,05	8,86%
24	3,95	10,40%	5,90	13,92%	3,75	10,54%	5,20	2,15%
30	4,75	5,26%	4,20	6,52%	3,50	8,75%	5,75	4,35%
36	3,55	10,44%	3,60	9,32%	3,45	6,06%	3,65	3,75%
42	3,60	3,80%	3,70	7,48%	3,40	4,03%	4,00	7,65%
48	2,75	9,09%	3,70	10,00%	3,70	5,65%	3,75	6,67%
54	2,70	7,75%	3,95	5,29%	3,25	5,54%	4,45	7,42%
60	1,85	15,41%	3,85	7,40%	3,35	8,36%	4,30	4,88%
66	1,50	11,78%	2,40	11,88%	3,75	8,27%	5,00	5,00%
DISGREGACION (min)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	4,48	6,70%	4,48	6,70%	4,48	6,70%	4,48	6,70%
6	3,93	7,95%	4,18	10,36%	5,72	9,27%	9,43	6,72%
12	4,32	10,43%	4,46	10,16%	9,15	4,84%	24,05	2,33%
18	3,64	9,34%	3,61	11,04%	7,46	6,90%	19,51	9,83%
24	4,31	8,40%	4,44	7,38%	10,27	9,00%	22,20	5,37%
30	3,92	11,67%	4,05	8,37%	13,19	7,75%	25,74	11,97%
36	4,12	7,88%	4,34	12,00%	15,42	9,20%	28,43	12,97%
42	3,91	7,86%	4,23	9,95%	19,80	8,19%	31,11	9,33%
48	3,01	9,52%	4,39	12,28%	19,19	11,09%	33,50	9,64%
54	2,47	14,72%	5,67	8,82%	19,88	5,22%	35,78	10,89%
60	2,17	14,57%	6,30	12,41%	19,36	4,89%	33,70	5,56%
66	1,99	15,45%	5,83	8,51%	19,65	6,69%	33,70	5,21%
t₇₀ (min)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	8,81	11,01%	8,81	11,01%	8,81	11,01%	8,81	11,01%
6	7,67	1,17%	7,73	3,10%	7,53	4,38%	19,29	0,98%
12	-	-	-	-	-	-	26,10	3,26%
18	4,91	4,68%	4,16	4,33%	15,16	1,71%	25,49	3,57%
30	4,22	7,35%	4,88	1,23%	17,35	11,12%	37,90	8,68%
48	2,50	12,00%	6,28	5,09%	19,91	6,78%	44,89	3,07%
66	2,78	13,67%	5,77	3,29%	21,40	7,62%	49,41	6,89%
ED^{10'} (%)								
Semanas	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.	X	c.v.
0	41,99	10,65%	41,99	10,65%	41,99	10,65%	41,99	10,65%
6	47,31	1,18%	46,91	2,94%	45,87	4,16%	24,21	2,85%
12	-	-	-	-	-	-	18,96	3,16%
18	63,48	2,14%	68,98	1,64%	24,27	3,09%	18,65	1,93%
30	67,52	2,53%	63,31	0,84%	21,36	11,80%	14,42	11,16%
48	82,13	3,47%	95,44	4,42%	22,25	4,00%	13,39	8,89%
66	78,47	2,74%	56,18	5,07%	22,72	9,64%	16,64	8,47%

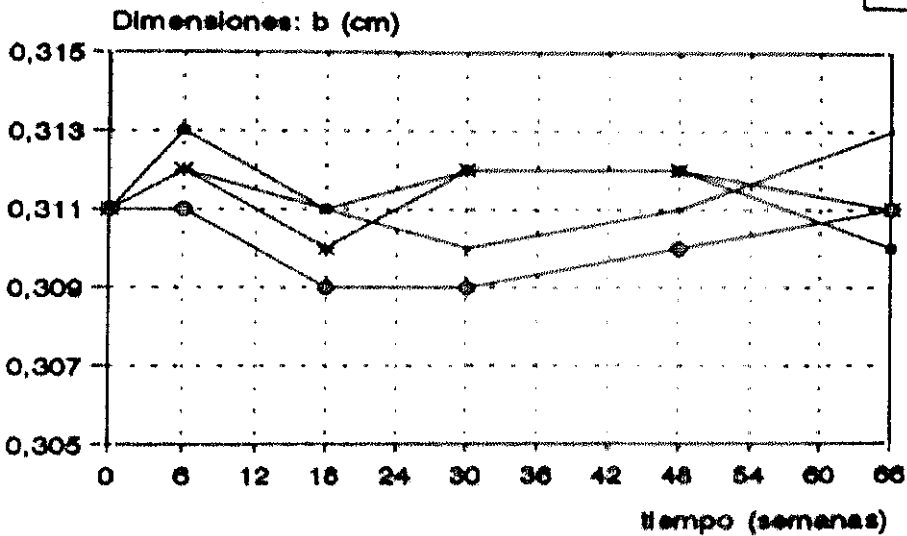
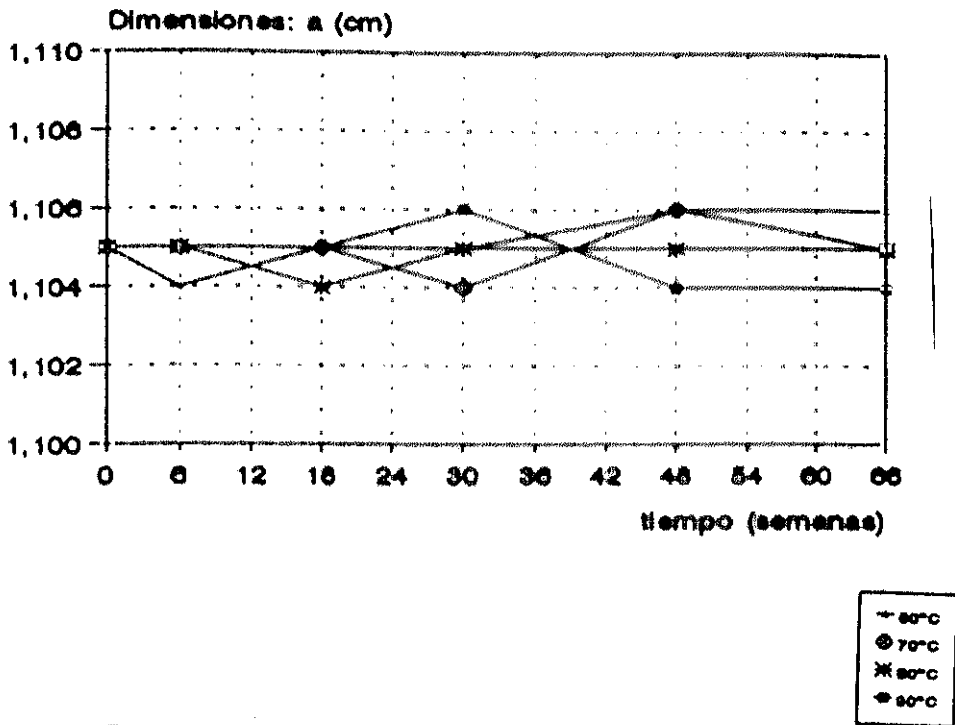


Figura 53. Representación gráfica de los valores de las dimensiones de los comprimidos A-III frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

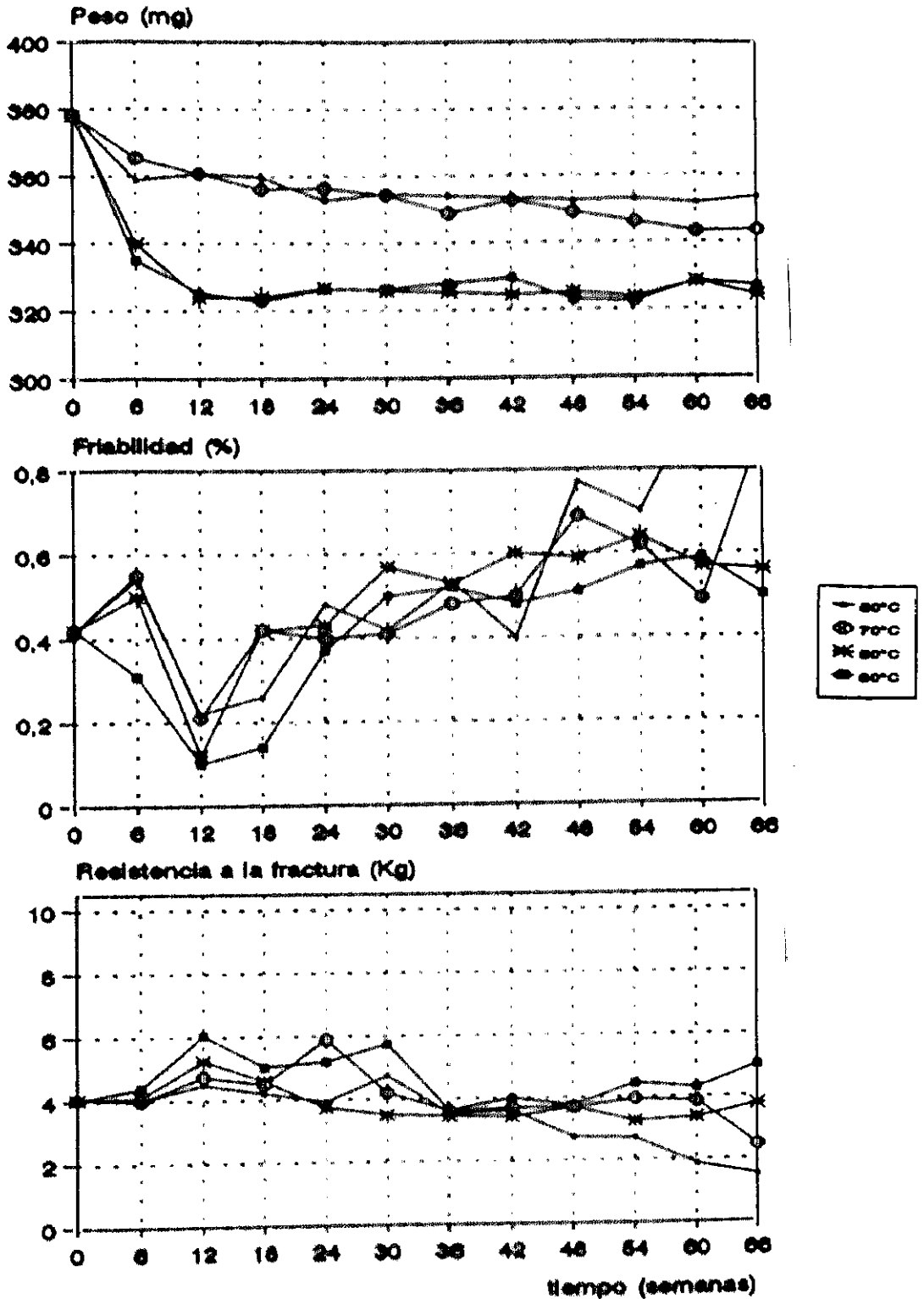


Figura 54. Representación gráfica de los valores de peso, friabilidad y resistencia a la fractura de los comprimidos A-III frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

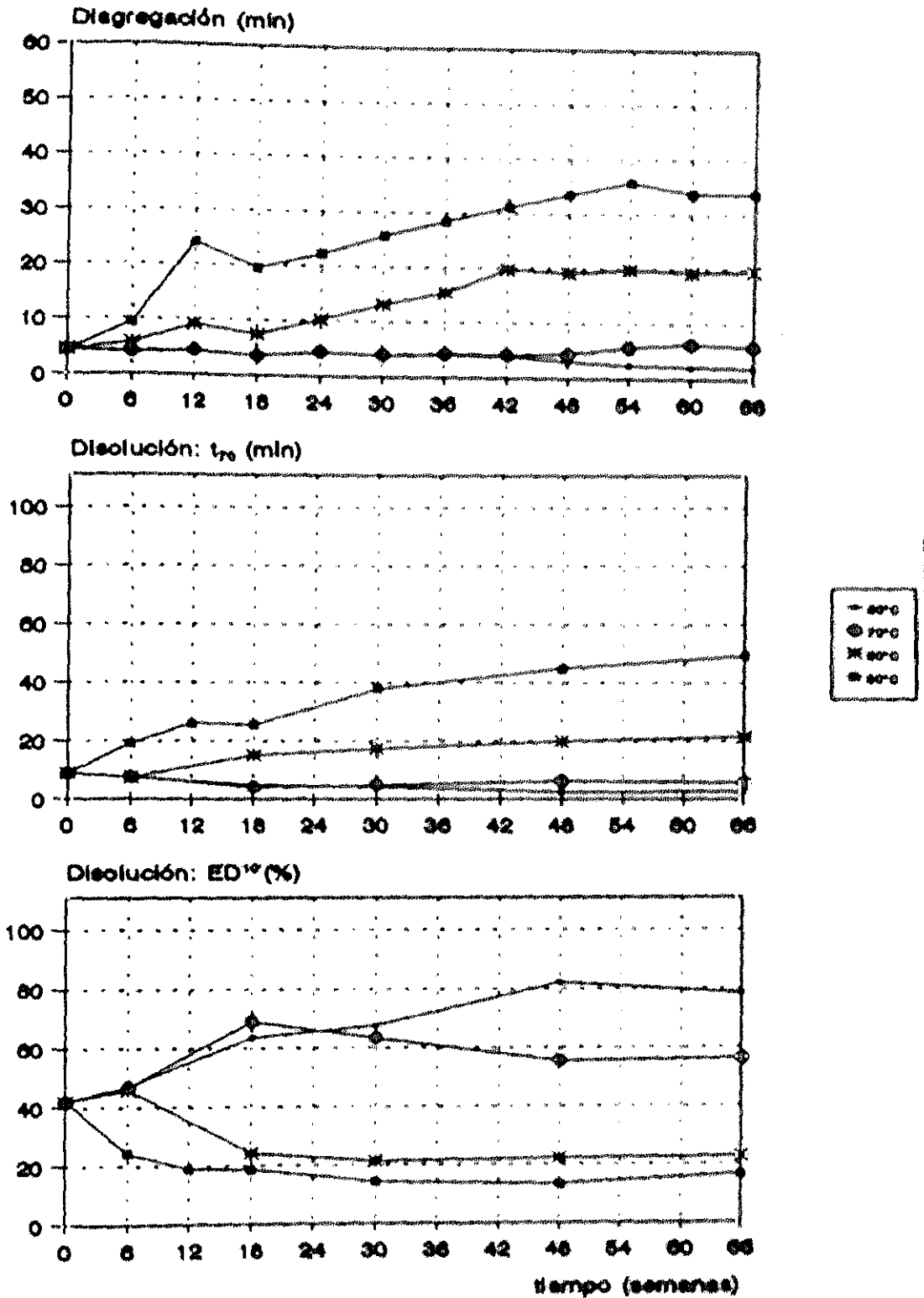


Figura 55. Representación gráfica de los valores de tiempo de diegregación, t_{70} y ED^{10} de los comprimidos A-III frente al tiempo de almacenamiento, para las cuatro temperaturas estudiadas.

Tabla CV: Resultados estadísticos obtenidos en la comparación de los valores de las características físicas de los comprimidos A-III correspondientes al último muestreo con los valores iniciales de las mismas.

	t°	n	x	s	F		t respecto inicial
					Duanevax	Student	
PESO (mg)	t°	20	376,40	4,48			
	60°C	20	353,42	10,91	5,94**	8,78**	91,89
	70°C	20	343,55	7,82	3,04**	16,30**	91,28
	80°C	20	324,36	5,10	1,30	34,25**	86,17
	90°C	20	327,14	5,90	1,73	29,74**	86,91
R. FRACTURA (Kg)	t°	5	4,05	0,21			
	60°C	5	1,50	0,39	3,57	12,75**	37,04
	70°C	5	2,45	0,48	5,28	6,82**	60,49
	80°C	5	3,75	0,31	2,14	1,81	100,00
	90°C	5	5,00	0,25	1,43	6,52**	123,46
T. DISGREGACION (min)	t°	6	4,48	0,30			
	60°C	6	1,66	0,49	2,66	11,96**	37,05
	70°C	6	4,50	1,07	12,58**	0,03	100,00
	80°C	6	17,31	3,15	107,87**	9,94**	386,38
	90°C	6	26,21	6,80	593,86**	7,82**	585,04
t70 (min)	t°	6	8,81	0,97			
	60°C	6	2,78	0,38	6,56*	14,19**	31,55
	70°C	6	5,77	0,19	27,26**	7,55**	65,49
	80°C	6	21,40	1,16	2,84	16,23**	242,91
	90°C	6	49,41	3,40	12,32**	28,11**	560,84
E. D. 10' (%)	t°	6	41,99	4,47			
	60°C	6	78,47	2,15	4,31	17,99**	186,88
	70°C	6	56,18	2,95	2,46	6,55**	133,79
	80°C	6	22,72	2,19	4,17	9,47**	54,11
	90°C	6	16,64	1,41	10,08*	13,23**	39,63

t° = tiempo inicial

*0,05 > P > 0,01 **P < 0,01

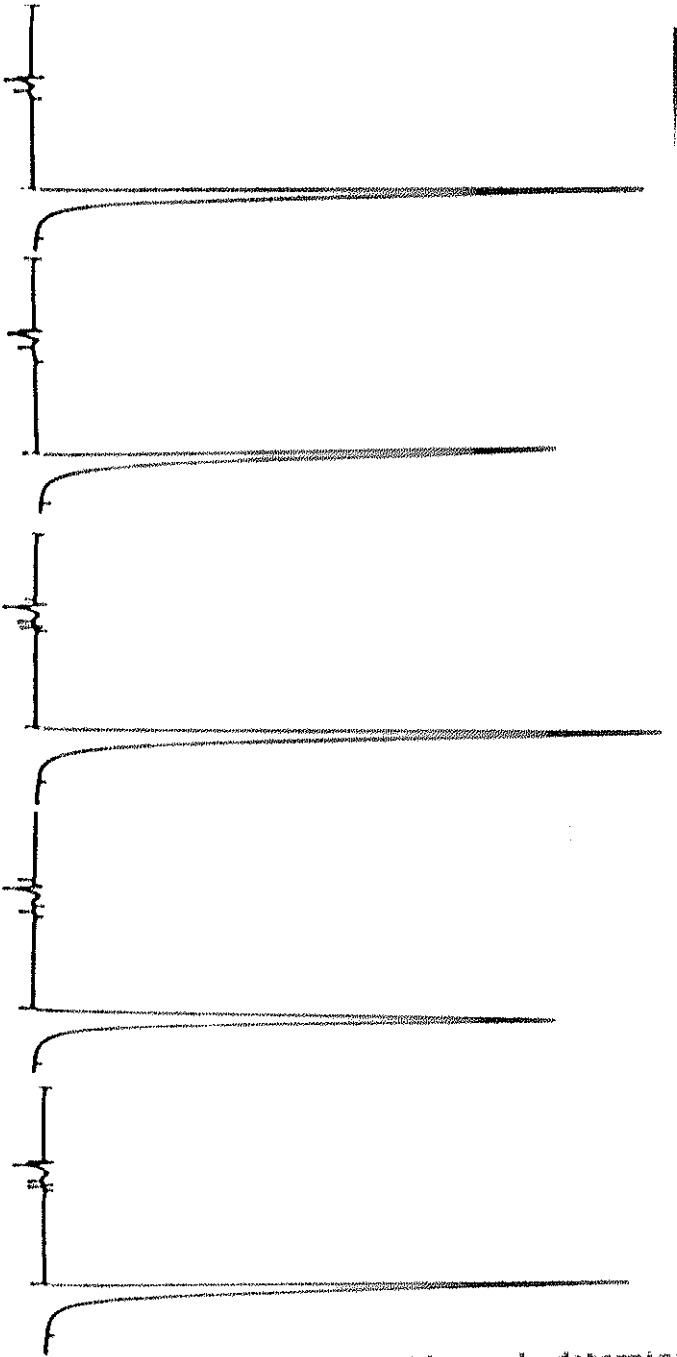


Figura 56. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide en los comprimidos A-III almacenados durante 66 semanas:

- a/ Patrón de Amonafide.2HCl.
- b/ 60°C.
- c/ 70°C.
- d/ 80°C.
- e/ 90°C.

Tabla CVI: Contenido en Amonafide de los comprimidos A-III: valores medios.

Semanas	n	60°C	70°C	80°C	90°C
		\bar{x} (mg)	\bar{x} (mg)	\bar{x} (mg)	\bar{x} (mg)
0	20	193,50	193,50	193,50	193,50
6	4	196,83	206,67	197,44	194,57
12	4	201,44	199,64	179,56	197,88
18	4	198,13	194,95	180,80	215,57
24	4	201,23	207,56	181,73	182,37
30	4	181,56	193,05	174,76	179,66
36	4	178,97	191,45	174,50	186,11
42	4	193,89	195,03	174,85	187,49
48	4	185,43	190,86	175,41	185,66
54	4	182,51	194,70	163,76	170,39
60	4	169,00	195,00	163,70	187,80
66	4	177,84	181,74	166,72	186,85

Tabla CVII: Correlación entre la cantidad de Amonafide "versus" tiempo y mejor ajuste (orden cero, orden uno) de los datos de estabilidad química de los comprimidos A-III.

	60°C	70°C	80°C	90°C
r	0,836**	0,691*	0,933**	0,827**
r ²	0,699	0,478	0,871	0,684
σ^2 orden cero	1,645	2,448	0,690	6,003
σ^2 orden uno	1,622	2,460	0,672	6,032
F	1,01	1,01	1,03	1,01
F (orden cero)	2,13*	2,53*	1,17	5,76**
χ^2 (orden uno)	16,22	24,60**	6,72	60,32**
Mejor ajuste	1	(†)	0/1	(†)

*0,05 > P > 0,01 **P < 0,01

(†) No se obtiene un buen ajuste con ninguno de los dos modelos utilizados.

Tabla CVIII: Parámetros de la ecuación de ajuste seleccionada.

	60°C	70°C	80°C	90°C
modelo seleccionado	$Q = Q_0 e^{-kt}$			
Q ₀ (mg)	199,20	207,50	188,40	220,90
σ (mg)	4,22	3,06	1,42	5,29
k (1/semanas)	1,77E-03	1,61E-03	2,10E-03	2,66E-03
σ (1/semanas)	3,53E-04	3,38E-04	2,66E-04	5,81E-04

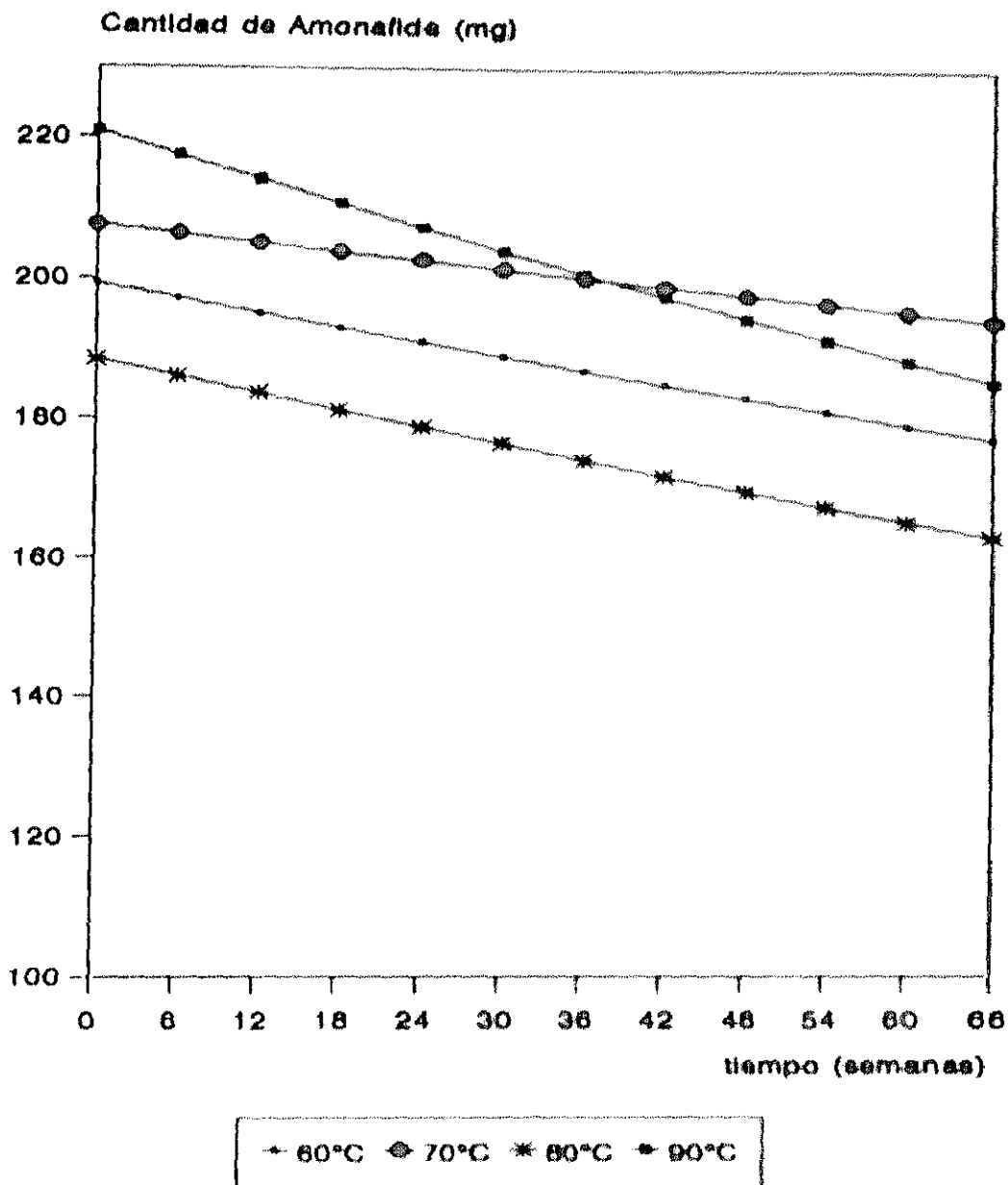


Figura 57. Perfil de degradación del Amonafide incluido en los comprimidos A-III para las distintas temperaturas; valores estimados.

Tabla CIX: Ecuación de Arrhenius: correlación entre las constantes de degradación "versus" inversa de la temperatura absoluta. Porcentaje de principio activo remanente a las 66 semanas de exposición a 60, 70, 80 y 90°C.

ARRHENIUS	r	0,595
	r ²	0,354
Q ₆₆ semanas (%)	60°C	87,10
	70°C	92,42
	80°C	84,36
	90°C	81,26

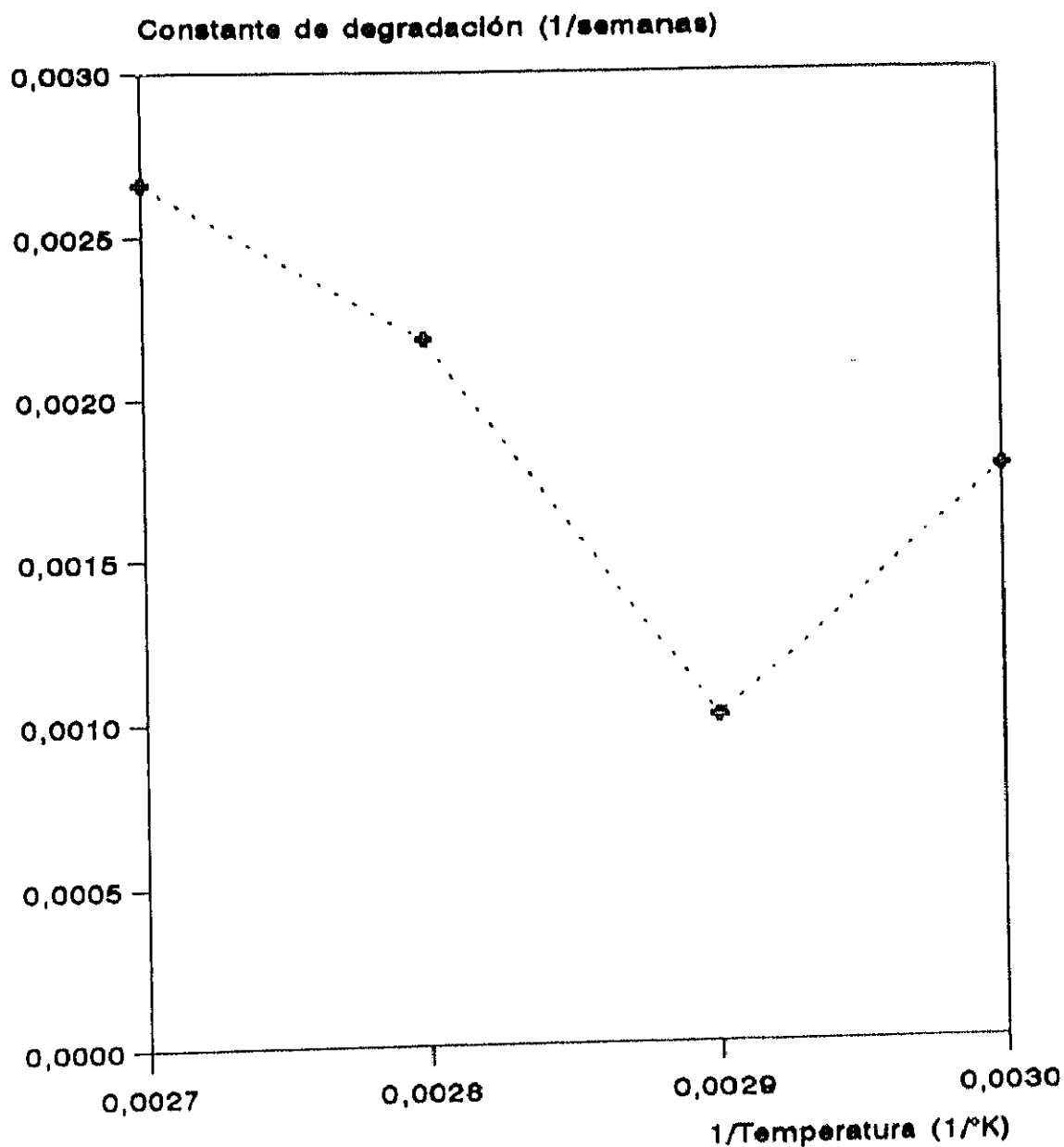


Figura 58. Constante de degradación del Amonafide incluido en los comprimidos A-III frente a la inversa de la temperatura absoluta.

5.3.3. DISCUSION

COMPRIMIDOS CON MITONAFIDE

En las figuras 59 y 60 se muestra la intensidad de las variaciones producidas a las 78 semanas de almacenamiento isotérmico a 60, 70, 80 y 90°C sobre los dos tipos de comprimidos con Mitonafide, expresada como porcentaje del valor del parámetro considerado respecto al valor del tiempo inicial, en el caso de la estabilidad física, y a través de los valores de porcentaje de principio activo remanente, calculado a partir de las ecuaciones de la cinética de degradación a cada temperatura, en el caso de la estabilidad química.

En cuanto a la estabilidad física (figura 59), destaca el intenso efecto negativo del almacenamiento a 90°C en ambos tipos de comprimidos, sobre todo en el aspecto, la resistencia a la fractura y la disgregación de los mismos. La característica menos afectada es la velocidad de disolución.

La repercusión del almacenamiento a 60 y 70°C es escasa en ambos tipos de comprimidos. Aún así, bajo estas temperaturas ambientales, los comprimidos M-I muestran una mayor estabilidad que los M-II en el peso y la resistencia a la fractura, pero una menor estabilidad en el color.

Salvo por el color, los comprimidos M-I son, por lo tanto, los que presentan una mayor estabilidad física según las características analizadas.

La mayor estabilidad en la resistencia a la fractura de los comprimidos M-I puede ser debida a que el Kollidon CL produce un ablandamiento de los comprimidos menor que el almidón de maíz (127). El Kollidon CL tiene mucha menos agua que el almidón y su comportamiento higroscópico es más ligero que el del almidón. Cabe recordar que la composición de ambos tipos de comprimidos es similar, siendo una de las diferencias que los comprimidos M-I tienen Kollidon CL y los M-II almidón de maíz, como disgregantes.

La menor estabilidad en el color de los M-I con el almacenamiento puede deberse a la técnica de elaboración empleada (127).

En cuanto a la estabilidad química (figura 60), al igual que en la estabilidad física, destaca el intenso efecto negativo del almacenamiento a 90°C en ambos tipos de comprimidos, aunque, de forma global, los dos presentan buenas perspectivas de estabilidad. Esto está en concordancia con la elevada estabilidad química del Mitonafide en disolución a elevadas temperaturas (89).

A la hora de seleccionar, desde este punto de vista químico, los comprimidos M-II son los mejores. Quizás debido a la técnica de elaboración empleada porque, aunque "a priori" la compresión previa granulación vía húmeda convencional puede presentar menos ventajas (43, 127), en este caso, y en cuanto a la estabilidad química, supone una protección del principio activo de la acción directa de los factores ambientales causa de inestabilidad.

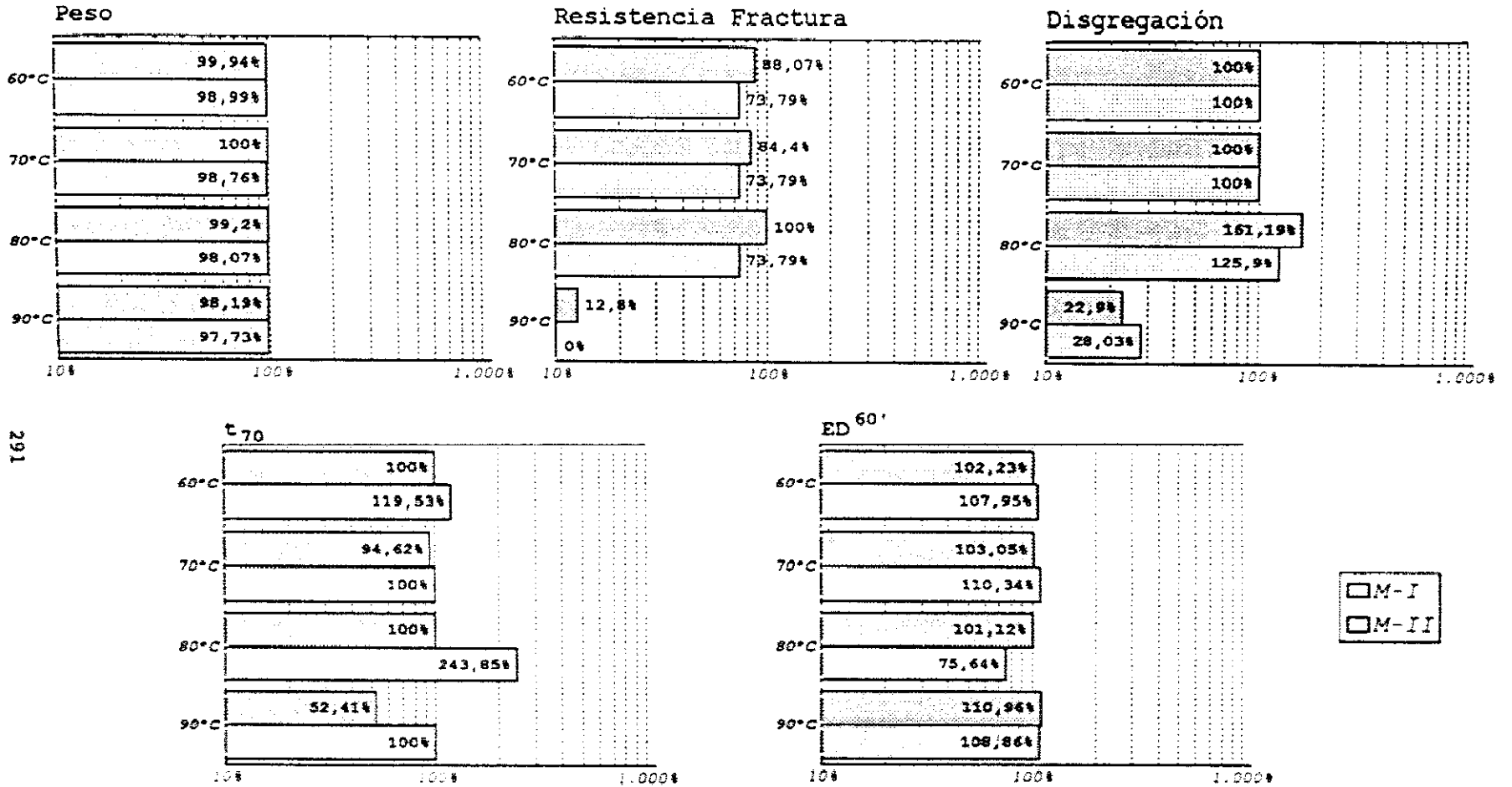


Figura 59. Intensidad de las variaciones detectadas en los comprimidos con Mitonafide (M-I y M-II) tras 78 semanas de almacenamiento a 60, 70, 80 y 90°C: estabilidad física

COMPRIMIDOS CON AMONAFIDE 2HCl

En las figuras 61 y 62 se muestra la intensidad de las variaciones detectadas a las 66 semanas de almacenamiento isotérmico a 60, 70, 80 y 90°C sobre los tres tipos de comprimidos con Amonafide, expresada como porcentaje del valor del parámetro considerado respecto al valor de tiempo inicial, en el caso de la estabilidad física, y a través del porcentaje de Amonafide remanente, calculado a partir de las ecuaciones de la cinética de degradación a cada temperatura, en el caso de la estabilidad química.

Respecto a la estabilidad física (figura 61), los comprimidos A-III son los más inestables en cuanto a peso y resistencia a la fractura. Entre los comprimidos A-I y A-II no existen grandes diferencias. En cuanto a la disgregación y disolución son todos muy inestables.

El comportamiento físico de los comprimidos A-I es más homogéneo que el de los demás en todas las condiciones ensayadas: si una propiedad física varía respecto a tiempo inicial, el sentido de la variación es el mismo para las cuatro temperaturas. Por ejemplo: el tiempo de disgregación aumenta y la velocidad de disolución disminuye en las cuatro temperaturas, con mayor o menor intensidad respecto a tiempo inicial.

Las variaciones de las características físicas de los comprimidos A-II y A-III son similares por tener la misma composición, pero se manifiestan con distinta intensidad debido a la diferente técnica de elaboración empleada en cada uno (en los comprimidos A-III los componentes están más accesibles a la acción de los factores ambientales). En estos comprimidos, el sentido de las modificaciones depende de la temperatura de trabajo por lo que resulta difícil sacar conclusiones extrapolables a condiciones normales de almacenamiento.

En este estudio isotérmico de estabilidad física, como en el de

la influencia de la humedad relativa, se confirma que se observan menos diferencias respecto a los cambios de la resistencia a la fractura, cuando éstos son función de las variaciones en el contenido en agua con el almacenamiento, entre los comprimidos obtenidos previa granulación vía húmeda (A-I, A-II) que en aquellos obtenidos de otra forma (A-III), almacenados bajo las mismas condiciones (23).

En cuanto a la estabilidad química (figura 62), los comprimidos A-I son los más estables. Se diferencian de los A-II y A-III en la composición, por lo tanto se puede pensar que la formulación de estos comprimidos confiere un mayor estabilidad química al principio activo frente a elevadas temperaturas.

En cuanto a la técnica de elaboración, teniendo en cuenta que los comprimido A-I y A-II, que son más estables que los A-III, se han elaborado previa granulación vía húmeda convencional, cabe pensar que esta técnica supone una protección del principio activo de la acción directa de los factores ambientales, causa de inestabilidad, aunque "a priori" la compresión previa granulación por vía húmeda convencional es una técnica desaconsejable para principios activos lábiles, ya que conlleva la realización de distintas etapas (humectación, secado...) en las que se puede ver comprometida la estabilidad del principio activo y el contacto entre los distintos componentes de la formulación es más íntimo (127, 43).

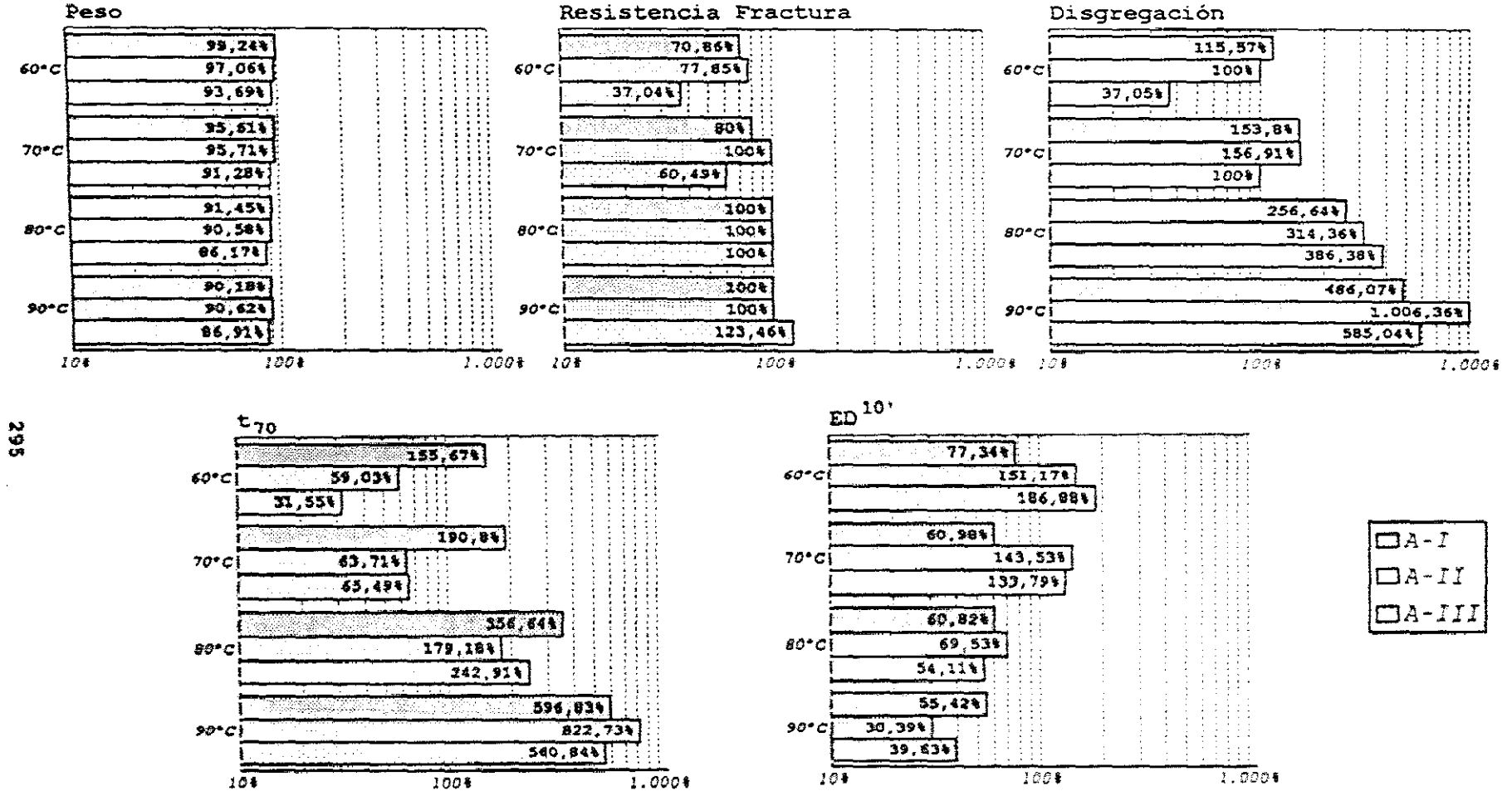


Figura 61. Intensidad de las variaciones detectadas en los comprimidos con Amonafide.2CHl (A-I, A-II y A-III) tras 66 semanas de almacenamiento a 60, 70, 80 y 90°C: estabilidad física.

5.4. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD.

Envejecimiento natural.

5.4.1. METODO

5.4.1.1.CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.

Las condiciones son las ambientales del laboratorio, evitando las radiaciones solares en el caso de los comprimidos con Mitonafide (87).

De cada tipo de comprimido se toman 60 unidades y se colocan formando una sola capa en placas petri abiertas. Se introducen en el interior de un armario cerrado situado en el laboratorio.

Periódicamente, se miden la humedad relativa y la temperatura del ambiente del interior del armario, utilizando un termohigrómetro y un termómetro de máxima y mínima. La temperatura media es de 22°C (18°C de mínima y 30°C de máxima) y la humedad relativa ambiental media de 35,5% (28,5% de mínima y 51,0% de máxima).

Se realiza un único muestreo, a los 2 años de almacenamiento.

5.4.1.2.CARACTERIZACION DE LOS COMPRIMIDOS.

Las características físicas de los comprimidos (aspecto físico, dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura, tiempo de disgregación y velocidad de disolución) se determinan empleando la misma metodología que cuando se caracterizan inicialmente. En el caso del peso y la disgregación de los comprimidos sólo se calculan el valor medio y su desviación estándar (31).

Para realizar la caracterización química se emplea el mismo método analítico que con los comprimidos recientemente preparados.

Se determina de forma individualizada el contenido en principio activo de 20 comprimidos.

5.4.1.3. TRATAMIENTO DE DATOS.

Es exactamente igual al aplicado en el estudio de la influencia de la humedad ambiental y la temperatura.

Se determina si ha habido modificación estadísticamente significativa de cada una de las características analizadas con el almacenamiento. En caso afirmativo se cuantifica la misma.

Como en el estudio de envejecimiento acelerado, quedan excluidos de este tratamiento los valores de friabilidad por generarse de una única determinación experimental.

5.4.2. RESULTADOS

COMPRESIONADOS CON MITONAFIDE

El aspecto físico de los comprimidos con Mitonafide (M-I y M-II) se muestra en la fotografía que se reproduce en la figura 63.

Los datos experimentales obtenidos en la determinación de las dimensiones, el peso, la friabilidad, la resistencia a la fractura y el tiempo de disgregación de los comprimidos están recogidos en las tablas CX y CXV para los comprimidos M-I y M-II, respectivamente. También se incluyen en estas tablas los siguientes resultados estadísticos: valor medio, desviación estándar y coeficiente de variación.

Los datos experimentales del ensayo de velocidad de disolución están representados en las figuras 64 y 66, según se trate de los comprimidos M-I y M-II, respectivamente. Los perfiles de disolución presentes en estas gráficas proceden de ajustar los datos experimentales de porcentaje disuelto "Q(%)" frente al tiempo de disolución "t" a una ecuación exponencial del tipo:

$$Q(\%) = B'(1 - e^{-k't}) + B''(1 - e^{-k''t}) + C$$

en la que los parámetros B, k y C toman los valores recogidos en las tablas CXI y CXVI. A partir de estas ecuaciones se calculan los parámetros de disolución que están plasmados en las tablas CXII y CXVII.

Por último, los datos relativos al contenido en Mitonafide de los comprimidos M-I y M-II se muestran en las tablas CXIII y CXVIII. Los cromatogramas más representativos de este análisis se reproducen en las figuras 65 y 67 para los comprimidos M-I y M-II.

Los resultados estadísticos obtenidos al comparar todos estos valores, tanto del estudio de la estabilidad física como del estudio de la estabilidad química, con los obtenidos inicialmente en la caracterización de los comprimidos, están recogidos en las tablas CXIV y CXIX para los comprimidos M-I y M-II. Este tratamiento no se realiza con los datos de las dimensiones, pues resulta evidente que no difieren del valor inicial.

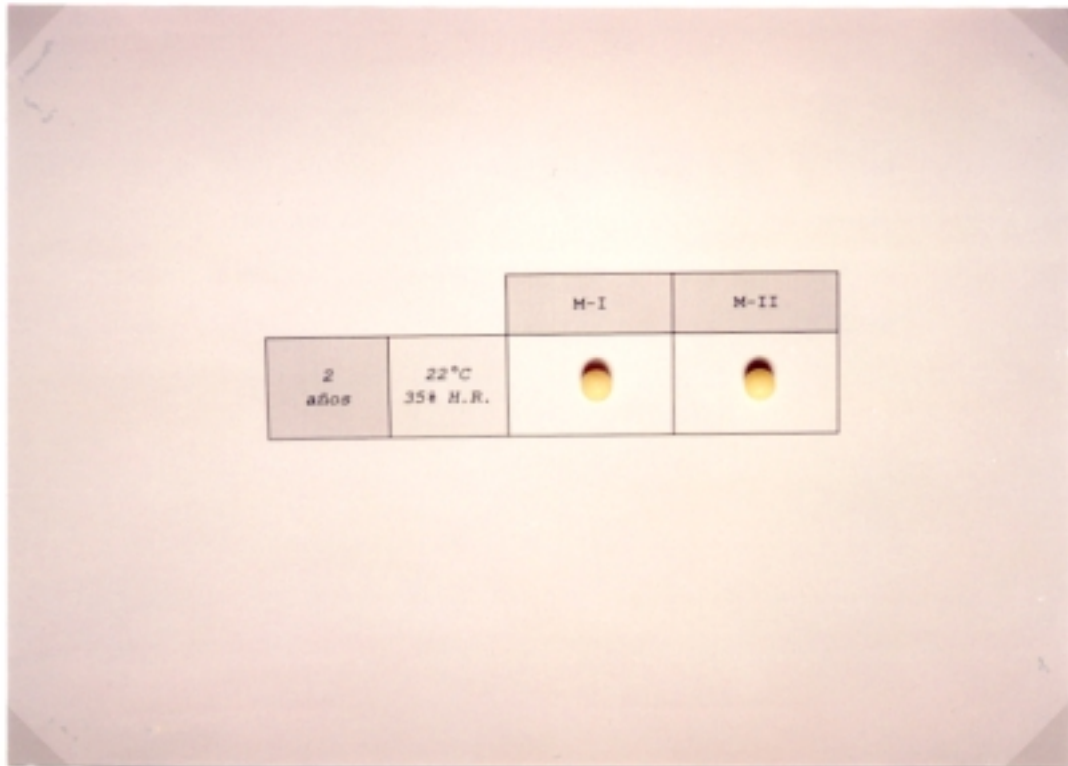


Figura 63. Aspecto físico de los comprimidos con Mitonafide.

COMPRIMIDOS M-I

Estabilidad física.

No se detecta modificación estadísticamente significativa en las dimensiones, el peso, la resistencia a la fractura y el tiempo de disgregación de los comprimidos (tabla CXIV).

El que el peso y la resistencia a la fractura de los comprimidos M-I no varíen con el almacenamiento se puede justificar si se tiene en cuenta que un 96%, aproximadamente, de su composición está constituido por sustancias no higroscópicas.

El tiempo de disgregación tampoco varía, probablemente porque en estas condiciones de almacenamiento la capacidad disgregante del Explotab y del Kollidon CL no está alterada, ni por efecto de la hidrofilia, como se comentó que ocurría al almacenar estos comprimidos a elevada humedad relativa (apartado 5.2.), ni por una posible alteración química de estas sustancias, como se comentó que podría ocurrir al almacenar estos comprimidos a elevada temperatura (apartado 5.3)

Se detectan variaciones con las condiciones y/o el tiempo de almacenamiento en el aspecto físico, la friabilidad y la velocidad de disolución.

Respecto al aspecto físico (figura 63), se observa un oscurecimiento de los comprimidos, que puede ser debido, entre otras cosas, a que el Ludipress, excipiente mayoritario de los comprimidos M-I, contiene un 93,4% de lactosa que adquiere una coloración marrón durante el almacenamiento (131).

La friabilidad disminuye, pero muy ligeramente respecto al tiempo inicial (tabla CX). Pasa de un valor de 0,26% de pérdida de peso a uno de 0,21%.

La velocidad de disolución aumenta, pero sólomente en la fase final del proceso, ya que el único parámetro que se modifica es el t_{100} (tabla CXIV y figura 64).

Estabilidad química.

No se detecta degradación estadísticamente significativa del Mitonafide (tabla CXIV). Este hecho se puede apreciar en los cromatogramas de la figura 65.

Al igual que en el estudio de estabilidad de envejecimiento acelerado se confirma la elevada estabilidad del Mitonafide.

Tabla CX: Dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación de los comprimidos M-I.

DIMENSIONES										
n	1	2	3	4	5	\bar{x}	σ	C.V.		
a (cm)	0,705	0,705	0,705	0,705	0,705	0,705				
b (cm)	0,460	0,465	0,465	0,470	0,470	0,466	0,004	0,86%		
c (cm)	0,200	0,205	0,200	0,205	0,205	0,203	0,003	1,48%		
PESO										
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	
1	172,1	5	172,6	9	174,2	13	172,8	17	171,5	
2	172,6	6	172,0	10	171,2	14	172,4	18	173,9	
3	172,5	7	171,6	11	171,1	15	173,2	19	172,3	
4	173,9	8	173,0	12	170,3	16	171,3	20	170,3	
Peso medio = 172,2 mg									$\sigma = 1,1$ mg	C.V. = 0,64%
RESISTENCIA A LA FRACTURA										
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	
1	4,75	2	4,50	3	5,00	4	5,50	5	5,00	
$\bar{x} = 4,95$ Kg									$\sigma = 0,37$ Kg	C.V. = 7,48%
FRIABILIDAD										
Peso inicial = 3,4470 g					Peso final = 3,4396 g					
Pérdida de peso = 0,21%										
TIEMPO DE DISGREGACION										
n	min	n	min	n	min	tiempo medio = 2,50 min $\sigma = 0,12$ min C.V. = 4,80%				
1	2,32	3	2,50	5	2,58					
2	2,43	4	2,53	6	2,65					

p.a. disuelto (%)

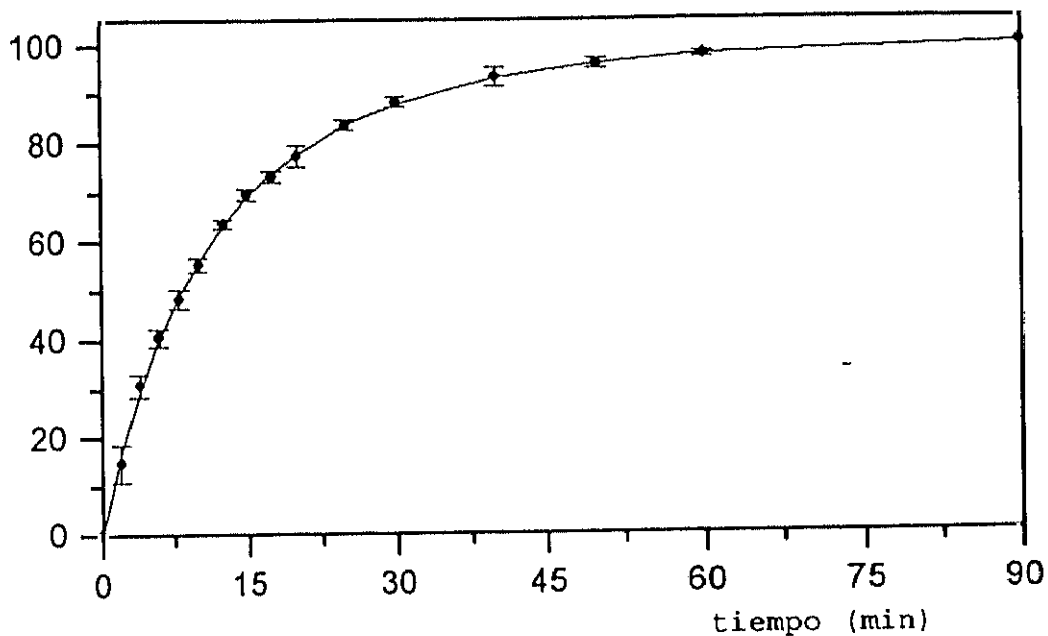


Figura 64. Perfiles de disolución de los comprimidos M-I.

Tabla CXI: Parámetros de las ecuaciones matemáticas que definen los perfiles de disolución del Mitonafide en los comprimidos M-I.

$$Q(\%) = B'(1-e^{-k't}) + B''(1-e^{-k''t}) + C$$

VELOCIDAD DE DISOLUCION			
Parámetros de la ecuación de ajuste:			
$B'(\%) = 55,92$	$\sigma = 3,43$	$B''(\%) = 44,41$	$\sigma = 11,00$
$k'(1/\text{min}) = 0,05$	$\sigma = 0,002$	$k''(1/\text{min}) = 0,140$	$\sigma = 0,023$

Tabla CXII: Parámetros característicos del proceso de disolución del Mitonafide incluido en los comprimidos M-I.

VELOCIDAD DE DISOLUCION					
n	t0 (min)	t70 (min)	t100 (min)	Q60' (%)	ED60' (%)
1	0	14,41	74,98	99,45	79,00
2	0	14,88	83,73	99,07	78,17
3	0	15,54	80,04	99,12	76,27
4	0	15,33	80,04	99,12	77,10
5	0	14,51	72,55	99,55	78,00
6	0	14,52	73,47	99,49	78,40
x	0	14,87	77,45	99,30	77,82
σ	0	0,47	4,45	0,22	0,98
C.V.	-	3,16%	5,75%	0,22%	1,26%

Tabla CXIII: Resultados de la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-I.

CONTENIDO EN MITONAFIDE							
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	100,46	6	99,88	11	101,46	16	101,26
2	99,88	7	100,32	12	99,84	17	102,41
3	101,22	8	101,83	13	102,93	18	100,75
4	101,70	9	102,96	14	102,06	19	102,26
5	100,69	10	102,75	15	102,82	20	101,31
Contenido medio = 101,44 mg		$\sigma = 1,05$ mg		C.V. = 1,04%			

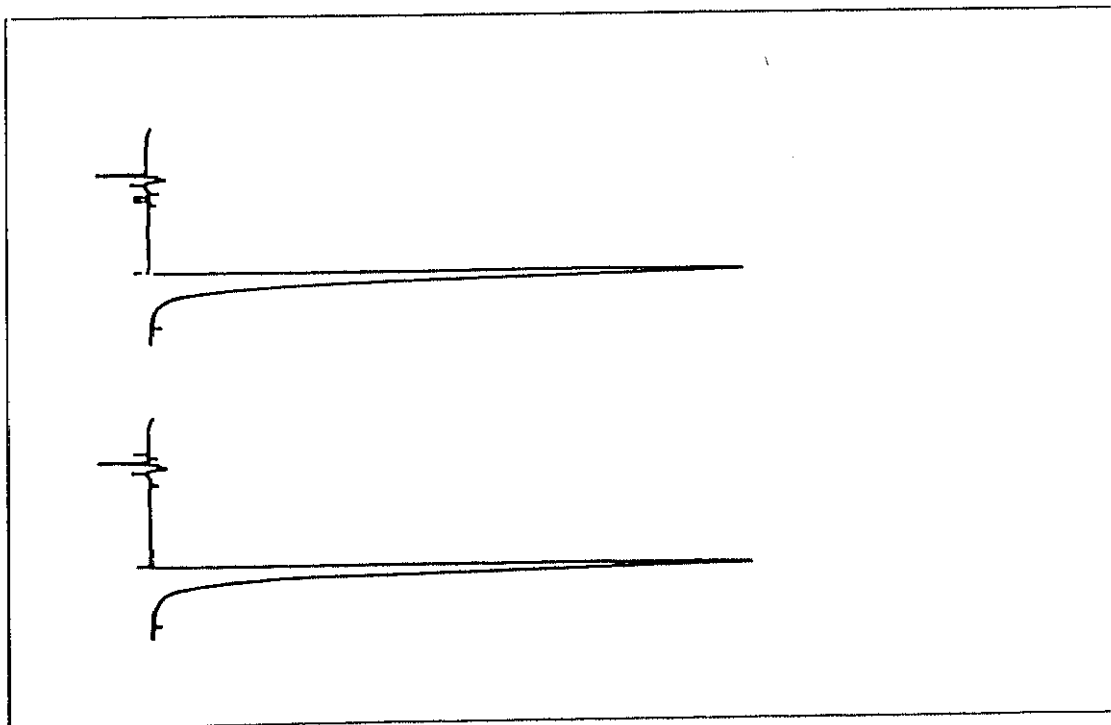


Figura 65. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-I almacenados durante 2 años.

a/ Patrón de Mitonafide.

b/ Muestra problema.

Tabla CXIV: Estabilidad de los comprimidos M-I: resultados del tratamiento estadístico de los datos de peso, de resistencia a la fractura, de tiempo de disgregación, de los parámetros de disolución y de los datos obtenidos en la cuantificación de Mitonafide.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
PESO (mg)	t°	20	172,35	1,03			
	t¹	20	172,24	1,11	1,17	0,31	100,00
R.FRACTURA (Kg)	t°	5	5,45	0,45			
	t¹	5	4,95	0,37	1,45	1,92	100,00
T.DISGREGACION (min)	t°	6	2,01	0,50			
	t¹	6	2,50	0,12	18,78**	2,34	100,00
t0 (min)	t°	6	0,00				
	t¹	6	0,00	-	-	-	-
t70 (min)	t°	6	14,50	0,31			
	t¹	6	14,87	0,47	2,38	1,60	100,00
t100 (min)	t°	6	118,33	2,58			
	t¹	6	77,45	4,45	2,98	19,44**	65,45
Q 60' (%)	t°	6	99,38	0,11			
	t¹	6	99,30	0,22	3,90	0,75	100,00
E.D. 60' (%)	t°	6	75,80	0,48			
	t¹	6	77,82	0,98	4,14	2,18	100,00
CONTENIDO EN P.A. (mg)	t°	20	101,50	1,95			
	t¹	20	101,44	1,05	3,42**	0,12	100,00

t°= tiempo inicial
t¹= 2 años

** P<0,01

COMPRIMIDOS M-II

Estabilidad física.

No se detecta modificación estadísticamente significativa en las dimensiones (tabla CXV), el peso, la friabilidad (tabla CXV), la resistencia a la fractura y el tiempo de disgregación de los comprimidos (tabla CXIX).

La no variación en el peso y en la resistencia mecánica de los comprimidos M-II con el almacenamiento, se puede deber a la no variación significativa del contenido en agua del comprimido. La friabilidad supone, inicialmente, una pérdida de peso de 0,22% y tras dos años de almacenamiento toma valores de 0,23%.

El tiempo de disgregación tampoco varía: en estas condiciones de almacenamiento la capacidad disgregante del almidón de maíz no está alterada.

Se detectan variaciones con las condiciones y/o el tiempo de almacenamiento en el aspecto físico (figura 63) y la velocidad de disolución (tabla CXIX).

El color de los comprimidos se oscurece ligeramente, probablemente debido, al igual que en los comprimidos M-I, a la coloración marrón que adquiere la lactosa (20,18% de la composición total) con el almacenamiento (131).

La velocidad de disolución varía respecto a tiempo inicial, pero de forma muy ligera, ya que solamente se detecta una disminución del período de latencia (tabla CXIX).

Estabilidad química.

Como se desprende de los datos de la tabla CXIX y del análisis de los cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-II tras dos años de almacenamiento (figura 67), no se detecta degradación estadísticamente significativa del principio activo.

Tabla CXV: Dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación de los comprimidos M-II.

DIMENSIONES									
n	1	2	3	4	5	x	σ	C.V.	
a (cm)	0,705	0,705	0,705	0,705	0,705	0,705			
b (cm)	0,475	0,470	0,470	0,470	0,475	0,472	0,003	0,64%	
c (cm)	0,225	0,215	0,220	0,220	0,225	0,221	0,004	1,81%	
PESO									
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	184,0	6	185,7	11	184,4	16	186,2	17	184,0
2	181,3	7	183,7	12	186,3	17	185,9	18	184,6
3	187,3	8	183,6	13	184,9	18	185,7	19	185,3
4	186,0	9	185,1	14	184,2	19	183,9	20	183,8
Peso medio = 184,8 mg $\sigma = 1,3$ mg C.V. = 0,72%									
RESISTENCIA A LA FRACTURA									
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg
1	5,00	2	5,25	3	4,75	4	4,75	5	5,50
$x = 5,05$ Kg $\sigma = 0,33$ Kg C.V. = 6,53%									
FRIABILIDAD									
Peso inicial = 3,6932 g					Peso final = 3,6847 g				
Pérdida de peso = 0,23%									
TIEMPO DE DISGREGACION									
n	min	n	min	n	min	tiempo medio = 9,52 min			
1	8,83	3	9,17	5	10,13	$\sigma = 0,59$ min C.V. = 6,20%			
2	9,03	4	9,72	6	10,22				

p.a. disuelto (%)

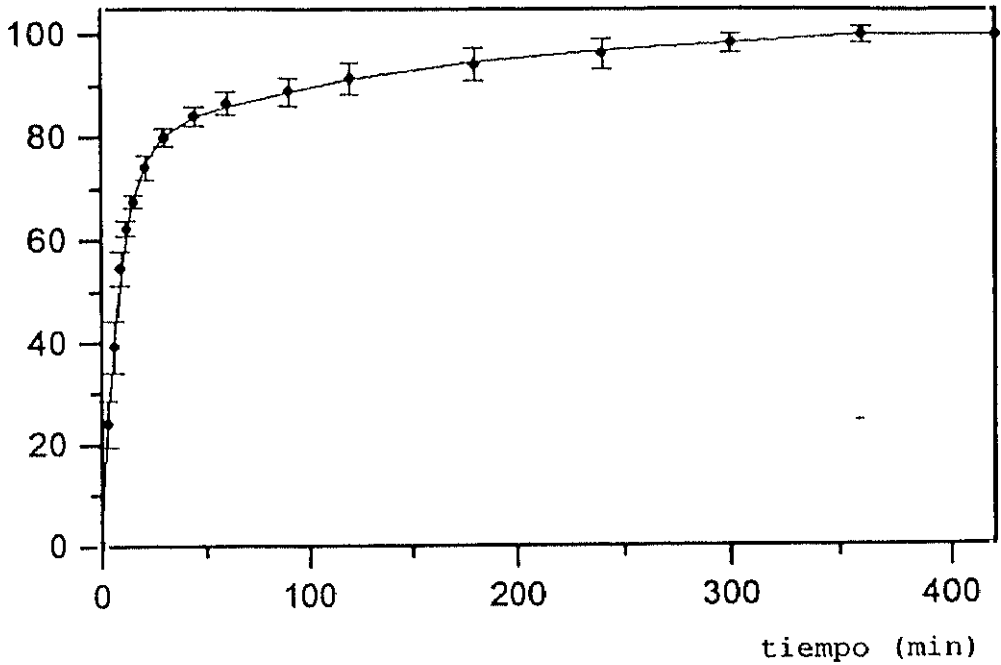


Figura 66. Perfiles de disolución de los comprimidos M-II.

Tabla CXVI: Parámetros de las ecuaciones matemáticas que definen los perfiles de disolución del Mitonafide en los comprimidos M-II.

$$Q(\%) = B'(1-e^{-k't}) + B''(1-e^{-k''t}) + c$$

VELOCIDAD DE DISOLUCION			
Parámetros de la ecuación de ajuste:			
$B'(\%) = 93,42$	$\sigma = 2,39$	$B''(\%) = 25,02$	$\sigma = 0,99$
$k'(1/\text{min}) = 0,139$	$\sigma = 0,007$	$k''(1/\text{min}) = 0,006$	$\sigma = 0,001$

Tabla CXVII: Parámetros característicos del proceso de disolución del Mitonafide incluido en los comprimidos M-II.

VELOCIDAD DE DISOLUCION					
n	t ₀ (min)	t ₇₀ (min)	t ₁₀₀ (min)	Q ₆₀ ' (%)	ED ₆₀ ' (%)
1	0,00	15,23	306,00	86,09	73,97
2	1,04	15,23	360,00	86,20	71,43
3	1,23	17,73	412,60	82,46	68,53
4	0,00	16,81	268,60	89,88	73,55
5	0,00	18,79	420,00	84,28	69,32
6	0,00	17,52	360,00	86,80	71,42
x	0,37	16,89	354,53	85,95	71,37
σ	0,58	1,43	59,09	2,50	2,18
C.V.	157,00%	8,47%	16,67%	2,91%	3,05%

Tabla CXVIII: Resultados de la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-II.

CONTENIDO EN MITONAFIDE							
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	103,64	6	101,25	11	101,85	16	101,79
2	100,69	7	103,24	12	100,50	17	101,90
3	105,29	8	102,00	13	100,11	18	101,71
4	103,80	9	101,03	14	101,75	19	103,13
5	104,00	10	104,02	15	103,03	20	102,57
Contenido medio = 102,36 mg				$\sigma = 1,59$ mg		C.V. = 1,34%	

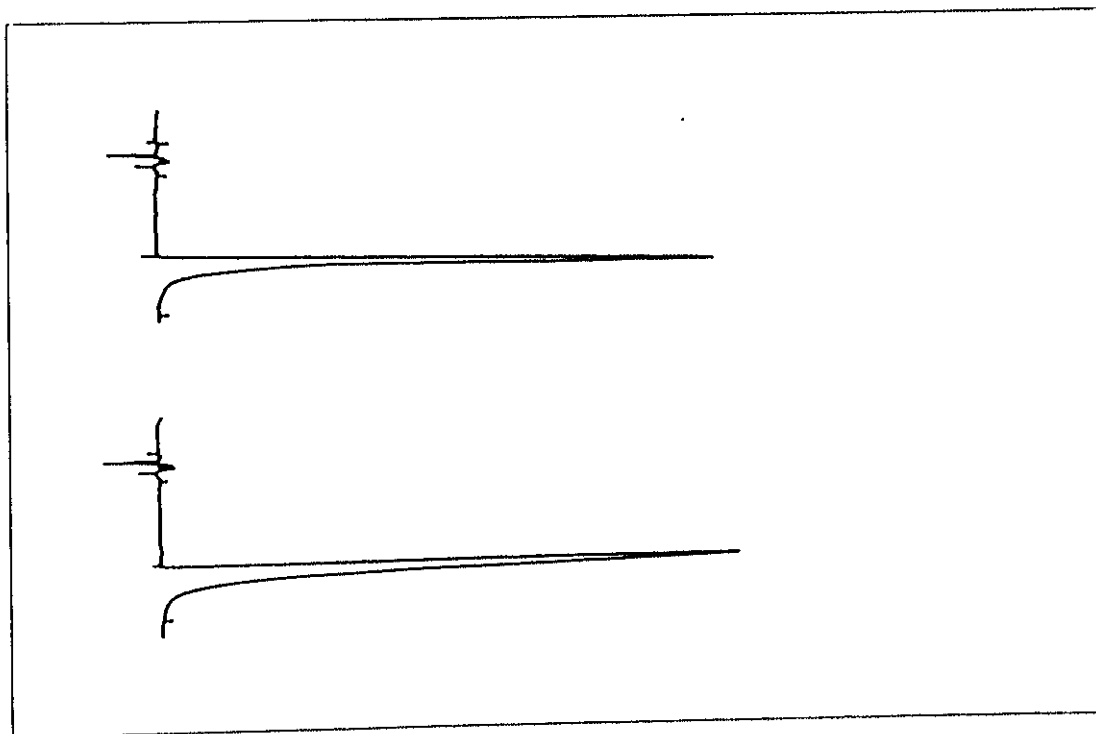


Figura 67. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Mitonafide en los comprimidos M-II almacenados durante 2 años.

- a/ Patrón de Mitonafide.
b/ Muestra problema.

Tabla CXIX: Estabilidad de los comprimidos M-II: resultados del tratamiento estadístico de los datos de peso, de resistencia a la fractura, de tiempo de disgregación, de los parámetros de disolución y de los datos obtenidos en la cuantificación de Mitonafide.

		n	\bar{x}	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
PESO (mg)	t°	20	184,56	1,25			
	t¹	20	184,80	1,33	1,14	0,58	100,00
R.FRACTURA (Kg)	t°	5	5,15	0,29			
	t¹	5	5,05	0,33	1,31	0,52	100,00
T.DISGREGACION (min)	t°	6	8,92	1,14			
	t¹	6	9,52	0,59	3,73	1,15	100,00
t0 (min)	t°	6	1,22	0,70			
	t¹	6	0,37	0,58	1,47	2,27*	30,33
t70 (min)	t°	6	16,03	0,99			
	t¹	6	16,89	1,43	2,10	1,21	100,00
t100 (min)	t°	6	345,77	30,07			
	t¹	6	354,53	59,09	3,86	0,32	100,00
Q 60' (%)	t°	6	85,24	1,74			
	t¹	6	85,95	2,50	2,06	0,57	100,00
E.D. 60' (%)	t°	6	70,28	1,49			
	t¹	6	71,37	2,18	2,15	1,02	100,00
CONTENIDO EN P.A. (mg)	t°	20	103,05	1,60			
	t¹	20	102,36	1,59	1,36	1,45	100,00

t°= tiempo inicial

t¹= 2 años

* 0,05 > P > 0,01

COMPRIMIDOS CON AMONAFIDE.2HCl

Con el fin de mostrar la evolución del aspecto físico de los comprimidos durante el almacenamiento se realiza la fotografía que se reproduce en la figura 68.

Los datos experimentales obtenidos en la determinación de las dimensiones, el peso, la friabilidad, la resistencia a la fractura y el tiempo de disgregación de los comprimidos están recogidos en las tablas CXX, CXXV y CXXX para los comprimidos A-I, A-II y A-III, respectivamente. En ellas se incluyen también los valores medios calculados con sus desviaciones y coeficiente de variación.

Los datos experimentales del ensayo de velocidad de disolución están representados en las figuras 69, 71 y 73, según se trate de los comprimidos A-I, A-II y A-III. Los perfiles de disolución que aparecen en estas gráficas se obtienen al ajustar los datos experimentales de porcentaje disuelto "Q(%)" frente al tiempo de disolución "t" a una ecuación exponencial del tipo:

$$Q(\%) = B'(1 - e^{-k't}) + C$$

en la que los parámetros B, k y C toman los valores recogidos en las tablas CXXI, CXXVI y CXXXI, para los tres tipos de comprimidos estudiados. A partir de estas ecuaciones se obtienen los parámetros de disolución que están plasmados en las tablas CXXII, CXXVII y CXXXII.

Por último, los resultados de la determinación cuantitativa del principio activo en los comprimidos A-I, A-II y A-III se muestran en las tablas CXXIII, CXVIII y CXXXIII. Los cromatogramas más representativos obtenidos en este análisis se reproducen en las figuras 70, 72 y 74 para los comprimidos A-I, A-II y A-III.

Los resultados del tratamiento estadístico de comparar todos estos valores obtenidos después del envejecimiento natural con los obtenidos en la caracterización inicial de los comprimidos están recogidos en las tablas CXXIV, CXXIX y CXXXIV, para los comprimidos A-I, A-II y A-III.

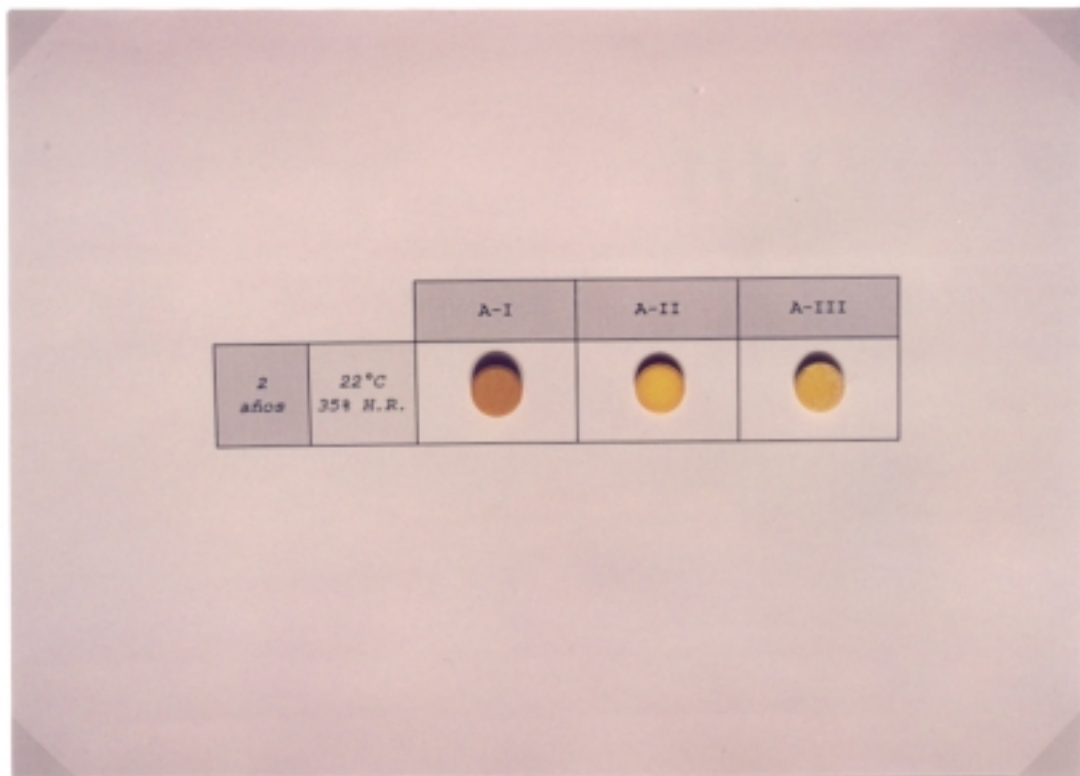


Figura 68. Aspecto físico de los comprimidos con Amonafide.2HCl.

COMPRIMIDOS A-I

Estabilidad física.

No se observa variación con el almacenamiento solamente en las dimensiones de los comprimidos.

Se detecta modificación en el aspecto físico, el peso, la resistencia a la fractura, la friabilidad, el tiempo de disgregación y la velocidad de disolución.

En cuanto al aspecto físico (figura 68), los comprimidos presentan un oscurecimiento no homogéneo.

El peso aumenta en un 1,18% (tabla CXXIV). Este fenómeno puede deberse a una posible captación de agua por parte del Avicel, sustancia higroscópica, que supone un 31,24% respecto a la composición total de los comprimidos A-I.

La resistencia a la fractura es menor que inicialmente (tabla CXXIV), como cabría esperar ya que, normalmente, los comprimidos con Avicel y con estearatos alcalinos en una proporción superior al 0,75% (estos comprimidos contienen un 0,80% de estearato magnésico) tienden a ablandarse con el almacenamiento (127). Este fenómeno también se observó al estudiar la influencia de la humedad relativa ambiental sobre la estabilidad física de los comprimidos A-I (apartado 5.2).

La friabilidad casi no varía: la pérdida de peso a tiempo inicial es de 0,25% y después de dos años de almacenamiento es de 0,28% (tabla CXX).

El tiempo de disgregación aumenta con el almacenamiento (tabla CXXIV). Esto es debido, probablemente, a que el propio comportamiento higroscópico del Avicel merma su capacidad disgregante, como también se observó en el estudio de la influencia de la humedad relativa ambiental sobre la estabilidad física de estos comprimidos.

La velocidad de disolución disminuye después de los dos años, como denotan todos los parámetros de disolución calculados, excepto el t_{70} (tabla CXXIV y figura 69).

Este enlentecimiento de la disolución está en concordancia con el incremento en el tiempo de disgregación del comprimido. Aunque un aumento de la disgregación se puede traducir en una detección de tiempo de latencia, en estos comprimidos no ocurre este fenómeno por la elevada afinidad del Amonafide por el líquido de ataque.

Estabilidad química.

Después de dos años de almacenamiento, se detecta una degradación del principio activo del 2,74% (tabla CXXIV y figura 70).

Si se considera la hipótesis, ya expuesta en el estudio de envejecimiento acelerado, sobre un posible mecanismo de descomposición de principios activos hidrosolubles, basado en la disolución de éstos en el agua acumulada en el comprimido (27), es probable que el Amonafide.2HCl se disuelva en el agua que ha captado el comprimido y esto catalice su degradación.

Tabla CXX: Dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación de los comprimidos A-I.

DIMENSIONES									
n	1	2	3	4	5	x	σ	C.V.	
a (cm)	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105			
b (cm)	0,375	0,385	0,385	0,390	0,385	0,384	0,005	1,30%	
PESO									
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	419,2	5	415,4	9	411,5	13	410,3	17	407,4
2	408,8	6	410,3	10	413,8	14	418,2	18	412,0
3	413,8	7	411,5	11	410,6	15	409,1	19	412,3
4	417,5	8	411,3	12	409,9	16	411,8	20	410,0
Peso medio = 412,2 mg $\sigma = 3,2$ mg C.V. = 0,78%									
RESISTENCIA A LA FRACTURA									
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg
1	8,25	2	8,00	3	7,25	4	7,00	5	8,00
$x = 7,70$ Kg $\sigma = 0,54$ Kg C.V. = 7,04%									
FRIABILIDAD									
Peso inicial = 8,2027g					Peso final = 8,1799g				
Pérdida de peso = 0,28%									
TIEMPO DE DISGREGACION									
n	min	n	min	n	min	tiempo medio = 16,52 min $\sigma = 2,20$ min C.V. = 13,32%			
1	13,52	3	16,52	5	18,72				
2	14,38	4	17,07	6	18,88				

p.a. disuelto (%)

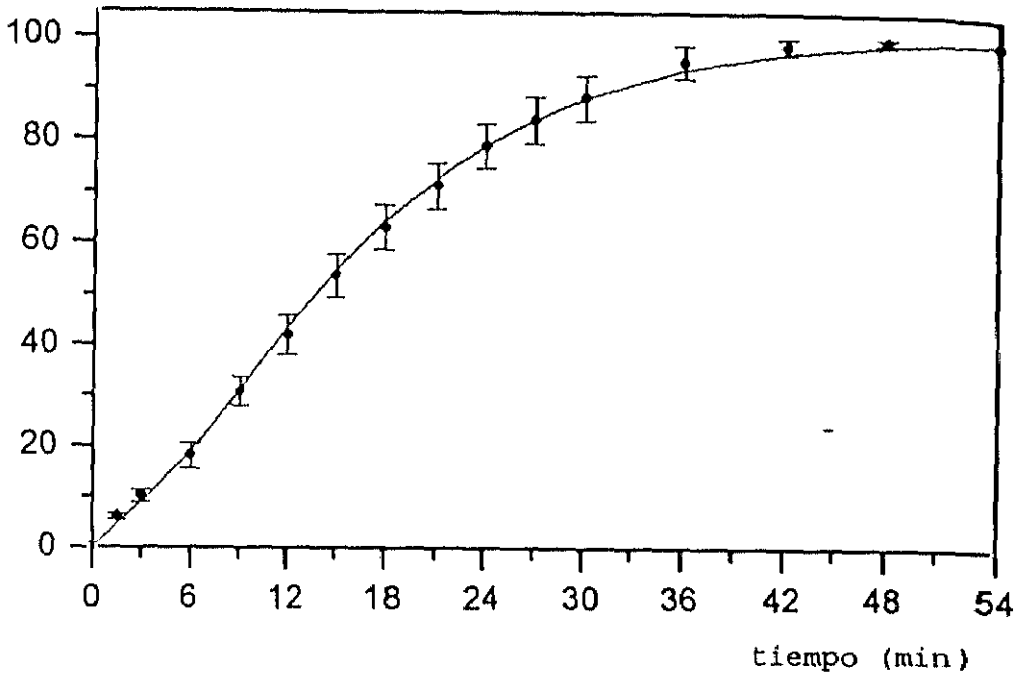


Figura 69. Perfiles de disolución de los comprimidos A-I.

Tabla CXXI: Parámetros de las ecuaciones matemáticas que definen los perfiles de disolución del Amonafide en los comprimidos A-I.

$$Q(\%) = B'(1 - e^{-k't}) + c$$

VELOCIDAD DE DISOLUCION			
Parámetros de la ecuación de ajuste:			
$B'(\%) = -403,2$	$\sigma = 100$	$B''(\%) = 498,80$	$\sigma = 100,00$
$k'(1/\text{min}) = 0,13$	$\sigma = 0,037$	$k''(1/\text{min}) = 0,107$	$\sigma = 0,037$

Tabla CXXII: Parámetros característicos del proceso de disolución del Amonafide incluido en los comprimidos A-I.

VELOCIDAD DE DISOLUCION					
n	t0 (min)	t70 (min)	t100 (min)	Q10' (%)	ED10' (%)
1	0	20,12	44,15	32,52	15,12
2	0	19,66	49,50	34,00	15,35
3	0	19,39	41,28	36,58	17,10
4	0	19,00	42,00	38,73	19,31
5	0	23,22	46,16	32,80	16,64
6	0	22,24	52,93	32,58	15,94
x	0	20,61	46,00	34,54	16,58
σ	0	1,71	4,52	2,57	1,53
C.V.	-	8,30%	9,83%	7,44%	9,23%

Tabla CXXIII: Resultados de la determinación cuantitativa del Amonafide en los comprimidos A-I.

CONTENIDO EN AMONAFIDE							
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	197,00	6	192,18	11	194,41	16	190,23
2	191,69	7	190,14	12	198,30	17	191,02
3	194,59	8	198,05	13	190,51	18	189,15
4	194,59	9	188,40	14	191,42	19	190,04
5	191,03	10	190,29	15	190,37	20	189,60
Contenido medio = 192,15 mg				$\sigma = 2,97$ mg		C.V. = 1,54%	

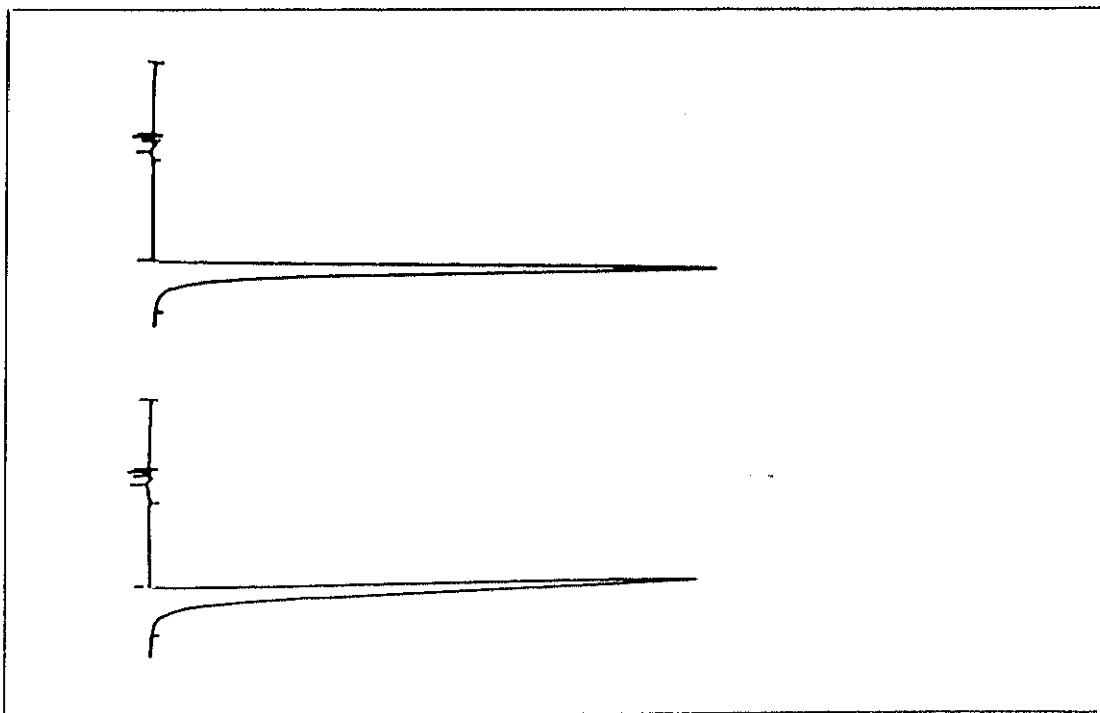


Figura 70. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide en los comprimidos A-I almacenados durante 2 años.

- a/ Patrón de Amonafide.
- b/ Muestra problema.

Tabla CXXIV: Estabilidad de los comprimidos A-I: resultados del tratamiento estadístico de los datos de peso, de resistencia a la fractura, de tiempo de disgregación, de los parámetros de disolución y de los datos obtenidos en la cuantificación de Amonafide.

		n	x	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
PESO (mg)	t°	20	407,50	4,53			
	t¹	20	412,24	3,20	2,01	3,86**	101,18
R.FRACTURA (Kg)	t°	5	8,75	0,35			
	t¹	5	7,70	0,54	2,35	3,63**	88,00
T.DISGREGACION (min)	t°	6	13,42	0,86			
	t¹	6	16,52	2,20	6,55*	3,21*	123,10
t0 (min)	t°	6	0,00				
	t¹	6	0,00	-	-	-	-
t70 (min)	t°	6	18,59	2,73			
	t¹	6	20,61	1,71	2,53	1,53	100,00
t100 (min)	t°	6	37,09	5,17			
	t¹	6	46,00	4,52	1,31	3,18**	124,02
Q 10' (%)	t°	6	44,55	3,92			
	t¹	6	34,54	2,57	2,33	5,24**	77,53
E.D.10' (%)	t°	6	24,27	2,95			
	t¹	6	16,58	1,53	3,69	5,67**	68,31
CONTENIDO EN P.A. (mg)	t°	20	197,56	4,92			
	t¹	20	192,15	2,97	2,75*	4,21**	97,26

t°= tiempo inicial
t¹= 2 años

* 0,05 > P > 0,01

** P < 0,01

COMPRIMIDOS A-II

Estabilidad física.

No se detecta modificación con el almacenamiento ni en las dimensiones, ni en el peso de los comprimidos A-II.

El peso es normal que no varíe si se tiene en cuenta la composición de los comprimidos A-II: a diferencia de los comprimidos A-I, el Avicel se encuentra en un 4,96%, solamente, respecto al total del peso.

Se observa modificación significativa con el almacenamiento en el aspecto físico, la resistencia a la fractura, la friabilidad, el tiempo de disgregación y la velocidad de disolución.

En los comprimidos A-II se observa un oscurecimiento después del almacenamiento, de mayor intensidad en la periferia de los mismos (figura 68).

La resistencia a la fractura incrementa ligeramente (17,09%) respecto al valor inicial (tabla CXXIX) debido, probablemente, al fortalecimiento de las uniones intergranulares consecuencia del comportamiento higroscópico del agente aglutinante.

La friabilidad disminuye, el valor es de 0,38% cuando los comprimidos A-II están recientemente preparados y pasa a ser de 0,23% en estas condiciones.

El tiempo de disgregación es mayor que inicialmente en un 12,27% solamente (tabla CXXIX). Esta variación se puede justificar si se considera que el Avicel, dado su comportamiento higroscópico, tiene mermada su capacidad disgregante en estas condiciones (22°C-35,5% H.R.).

A pesar de este ligero aumento del tiempo de disgregación la velocidad de disolución aumenta después de dos años de almacenamiento,

según se puede observar en los valores de todos los parámetros estudiados (tabla CXXIX) y en el perfil de disolución (figura 71) si se compara con el inicial.

Estabilidad química.

Después de dos años de almacenamiento, no se detecta degradación del Amonafide.2HCl incluido en estos comprimidos A-II (tabla CXXIX).

Se confirman las buenas características de estabilidad química de los comprimidos elaborados con Emcompress (26, 127, 132).

Tabla CXXV: Dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación de los comprimidos A-II.

DIMENSIONES									
n	1	2	3	4	5	x	σ	C.V.	
a (cm)	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105			
b (cm)	0,355	0,355	0,360	0,355	0,355	0,356	0,002	0,56%	
PESO									
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	408,3	5	419,1	9	423,2	13	427,2	17	414,3
2	416,7	6	411	10	422,2	14	420,0	18	428,4
3	410,7	7	416,4	11	414,4	15	425,7	19	423,9
4	420,6	8	423,1	12	409,1	16	420,1	20	423,2
Peso medio = 418,9 mg			$\sigma = 6,0$ mg			C.V. = 1,44%			
RESISTENCIA A LA FRACTURA									
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg
1	9,25	2	9,75	3	9,50	4	9,00	5	8,75
x = 9,25 Kg			$\sigma = 0,40$ Kg			C.V. = 4,32%			
FRIABILIDAD									
Peso inicial = 8,3776 g					Peso final = 8,3585 g				
Pérdida de peso = 0,23%									
TIEMPO DE DISGREGACION									
n	min	n	min	n	min	tiempo medio = 6,18 min $\sigma = 0,65$ min C.V. = 10,52%			
1	5,20	3	6,03	5	6,70				
2	5,70	4	6,55	6	6,87				

p.a. disuelto (%)

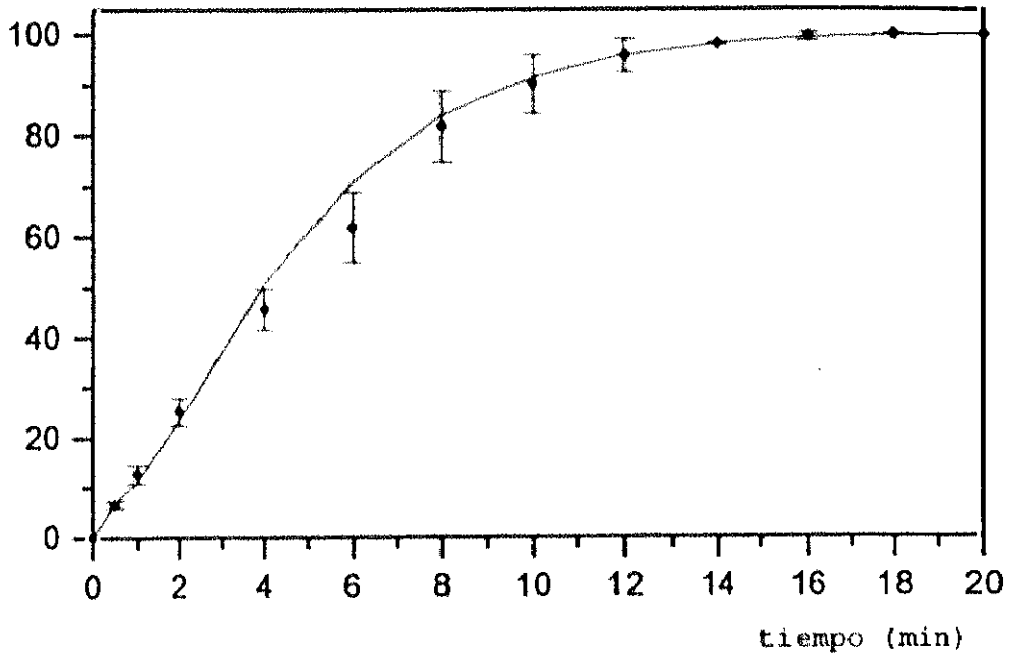


Figura 71. Perfiles de disolución de los comprimidos A-II.

Tabla CXXVI: Parámetros de las ecuaciones matemáticas que definen los perfiles de disolución del Amonafide en los comprimidos A-II.

$$Q(\%) = B'(1 - e^{-k't}) + C$$

VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN			
Parámetros de la ecuación de ajuste:			
$B'(\%) = 479,80$	$\sigma = 100$	$B''(\%) = -384,00$	$\sigma = 100$
$k'(1/\text{min}) = 0,35$	$\sigma = 0,100$	$k''(1/\text{min}) = 0,443$	$\sigma = 0,100$

Tabla CXXVII: Parámetros característicos del proceso de disolución del Amonafide incluido en los comprimidos A-II.

VELOCIDAD DE DISOLUCION					
n	t0 (min)	t70 (min)	t100 (min)	Q10' (%)	ED10' (%)
1	0,00	7,61	17,13	79,32	47,22
2	0,00	9,03	17,60	74,49	43,59
3	0,16	6,26	15,44	88,54	54,85
4	0,00	6,01	12,35	92,13	55,05
5	0,00	8,48	16,31	78,28	46,00
6	0,00	7,22	15,65	82,35	49,89
x	0,03	7,44	15,78	82,52	49,56
σ	0,06	1,19	1,89	6,65	4,63
C.V.	200,00%	15,99%	11,98%	8,06%	9,34%

Tabla CXXVIII: Resultados de la determinación cuantitativa del Amonafide en los comprimidos A-II.

CONTENIDO EN AMONAFIDE							
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	195,27	6	201,75	11	196,04	16	201,56
2	205,19	7	198,33	12	202,01	17	198,88
3	200,76	8	194,76	13	204,76	18	204,16
4	200,63	9	199,97	14	202,35	19	193,51
5	204,42	10	194,08	15	195,78	20	193,02
Contenido medio = 199,41 mg				$\sigma = 3,99$ mg		C.V. = 2,00%	

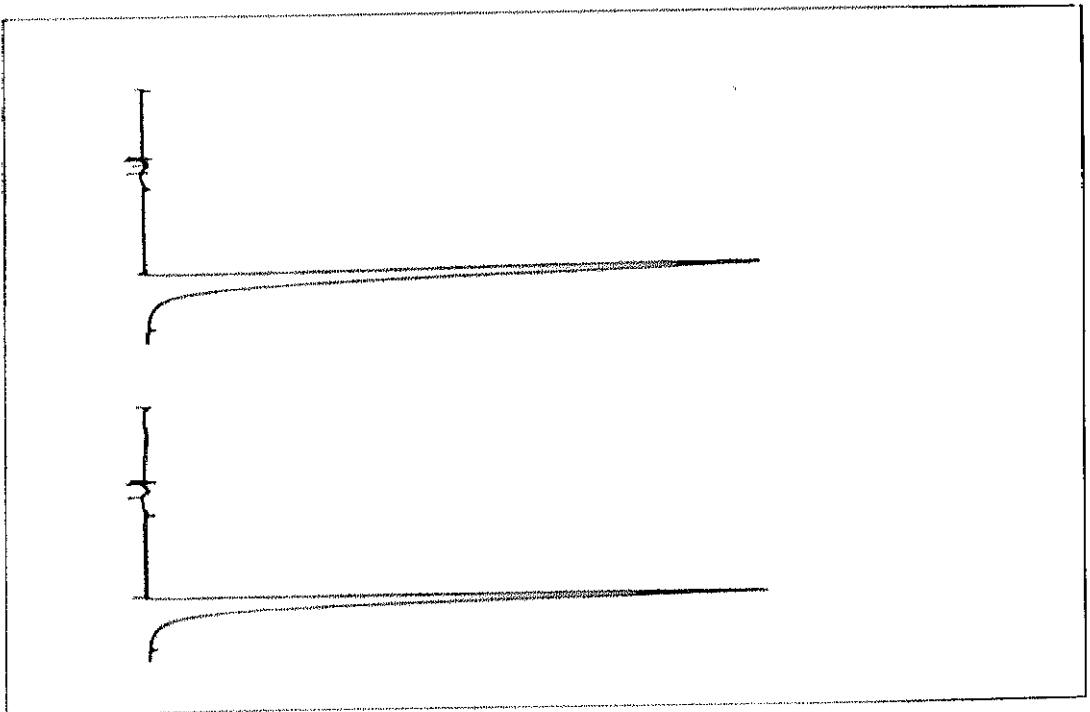


Figura 72. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide en los comprimidos A-II almacenados durante 2 años.

a/ Patrón de Amonafide.

b/ Muestra problema.

Tabla CXXIX: Estabilidad de los comprimidos A-II: resultados del tratamiento estadístico de los datos de peso, de resistencia a la fractura, de tiempo de disgregación, de los parámetros de disolución y de los datos obtenidos en la cuantificación de Amonafide.

		n	x	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
PESO (mg)	t°	20	418,00	4,80			
	t¹	20	418,98	6,03	1,58	0,49	100,00
R.FRACTURA (Kg)	t°	5	7,90	0,38			
	t¹	5	9,25	0,39	1,09	5,51**	117,09
T.DISGREGACION (min)	t°	6	5,50	0,12			
	t¹	6	6,18	0,65	26,64**	2,50*	112,27
t0 (min)	t°	6	0,04	0,06			
	t¹	6	0,03	0,06	-	0,32	100,00
t70 (min)	t°	6	10,47	1,48			
	t¹	6	7,44	1,19	1,54	3,91**	71,06
t100 (min)	t°	6	18,57	2,27			
	t¹	6	15,78	1,89	1,44	2,31*	84,98
Q 10' (%)	t°	6	67,89	6,31			
	t¹	6	82,52	6,65	1,11	3,91**	121,55
E.D.10' (%)	t°	6	36,43	3,64			
	t¹	6	49,56	4,63	1,61*	5,46**	136,04
CONTENIDO EN P.A. (mg)	t°	20	199,87	7,76			
	t¹	20	199,41	3,99	3,79**	0,24	100,00

t°= tiempo inicial
t¹= 2 años

*0,05>P>0,01

**P<0,01

COMPRIMIDOS A-III

Estabilidad física.

No se observa modificación en las dimensiones, la friabilidad y el tiempo de disgregación de los comprimidos con el almacenamiento.

El tiempo de disgregación de estos comprimidos no se modifica (tabla CXXXIV) como ocurre en los A-II, a pesar de que el disgregante es el mismo y se encuentra en una proporción similar (Avicel). Esto puede ser debido a que en los comprimidos A-III, en los que no se utiliza la granulación por vía húmeda para su elaboración el tiempo de disgregación se ve menos comprometido por la alteración del agente disgregante, ya que sólo depende del desmoronamiento de la masa compacta sin tenerse que producir, además, la disgregación de los gránulos (127).

Se detecta modificación con el almacenamiento en el aspecto físico, el peso, la resistencia a la fractura y la velocidad de disolución.

Las variaciones en estas características (figura 68 y tabla CXXXIV) son cualitativamente iguales a las detectadas en los comprimidos A-II, pero de mayor intensidad. Ambos tipos de comprimidos presentan la misma composición, pero para su elaboración se emplean técnicas distintas. Los comprimidos A-III, al no poseer la protección conferida por la granulación frente al efecto de los factores ambientales causa de inestabilidad, sufren con mayor intensidad los efectos de los mismos.

Estabilidad química.

Después de dos años de almacenamiento, no se detecta degradación del principio activo (tabla CXXXIV).

Se confirman otra vez las buenas características de estabilidad química de los comprimidos elaborados con Ecompressa, excipiente mayoritario de los comprimidos A-III.

Tabla CXXX: Dimensiones, peso, friabilidad, resistencia a la fractura y tiempo de disgregación de los comprimidos A-III.

DIMENSIONES									
n	1	2	3	4	5	x	σ	C.V.	
a (cm)	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105	1,105			
b (cm)	0,310	0,310	0,310	0,315	0,315	0,312	0,003	0,96%	
PESO									
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	365,0	6	354,3	11	359,8	16	362,7	17	363,3
2	357,1	7	360,0	12	364,0	17	365,7	18	360,1
3	358,3	8	358,0	13	361,1	18	365,6	19	366,9
4	366,6	9	365,8	14	362,9	19	361,5	20	360,4
Peso medio = 362,0 mg σ = 3,5 mg C.V. = 0,96%									
RESISTENCIA A LA FRACTURA									
n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg	n	Kg
1	6,50	2	5,75	3	6,00	4	5,50	5	5,50
x = 5,85 Kg σ = 0,42 Kg C.V. = 7,18%									
FRIABILIDAD									
Peso inicial = 7,2152 g					Peso final = 7,1847 g				
Pérdida de peso = 0,42%									
TIEMPO DE DISGREGACION									
n	min	n	min	n	min	tiempo medio = 4,01 min			
1	2,82	3	3,93	5	4,37	σ = 0,80 min C.V. = 19,95%			
2	3,53	4	4,25	6	5,17				

p.a. disuelto (%)

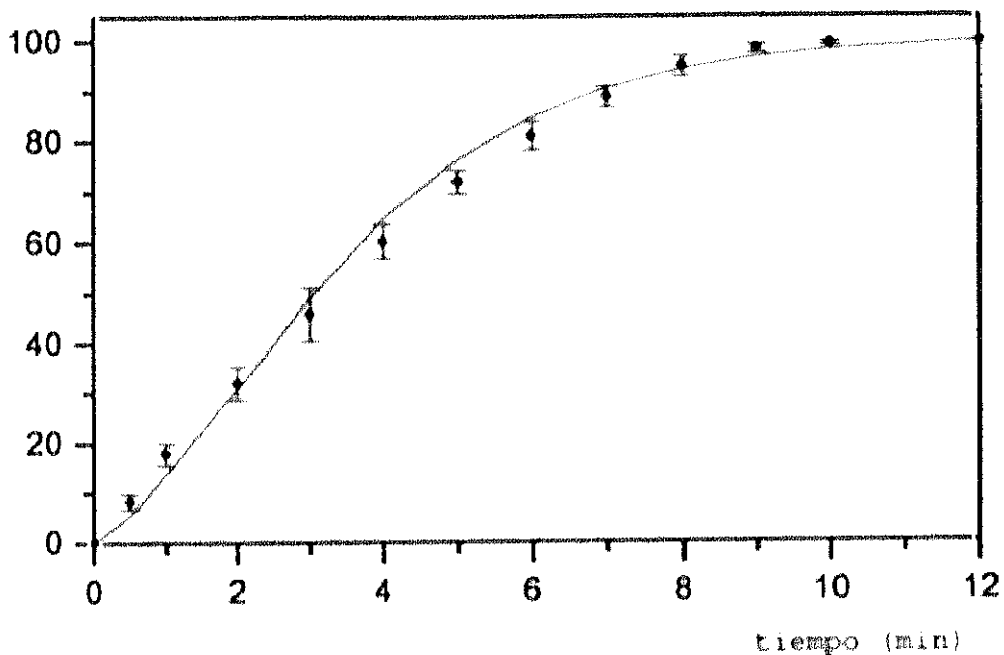


Figura 73. Perfiles de disolución de los comprimidos A-III.

Tabla CXXXI: Parámetros de las ecuaciones matemáticas que definen los perfiles de disolución del Amonafide en los comprimidos A-III.

$$Q(t) = B'(1 - e^{-k't}) + c$$

VELOCIDAD DE DISOLUCION			
Parámetros de la ecuación de ajuste:			
$B' (*) = 570,60$	$\sigma = 100$	$B'' (*) = -481,10$	$\sigma = 100,00$
$k' (1/min) = 0,50$	$\sigma = 0,167$	$k'' (1/min) = 0,630$	$\sigma = 0,167$

Tabla CXXXII: Parámetros característicos del proceso de disolución del Amonafide incluido en los comprimidos A-III.

VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN					
n	t0 (min)	t70 (min)	t100 (min)	Q10' (%)	ED10' (%)
1	0,23	5,14	10,30	98,89	62,11
2	0,00	4,33	9,21	100,00	66,48
3	0,32	4,59	10,01	99,98	65,33
4	0,22	4,67	10,31	99,75	64,99
5	0,28	4,69	10,03	99,97	64,84
6	0,00	4,65	8,77	100,00	61,42
x	0,17	4,68	9,77	99,77	64,20
σ	0,14	0,26	0,63	0,44	6,27
C.V.	82,35%	5,50%	6,45%	0,44%	9,77%

Tabla CXXXIII: Resultados de la determinación cuantitativa del Amonafide en los comprimidos A-III.

CONTENIDO EN AMONAFIDE							
n	mg	n	mg	n	mg	n	mg
1	206,93	6	198,74	11	199,95	16	179,88
2	170,32	7	171,88	12	208,01	17	179,13
3	182,28	8	182,66	13	202,06	18	186,17
4	202,87	9	204,22	14	175,48	19	183,50
5	174,83	10	189,77	15	177,55	20	206,89
Contenido medio = 189,56 mg		cp = 12,63 mg		C.V. = 6,66%			

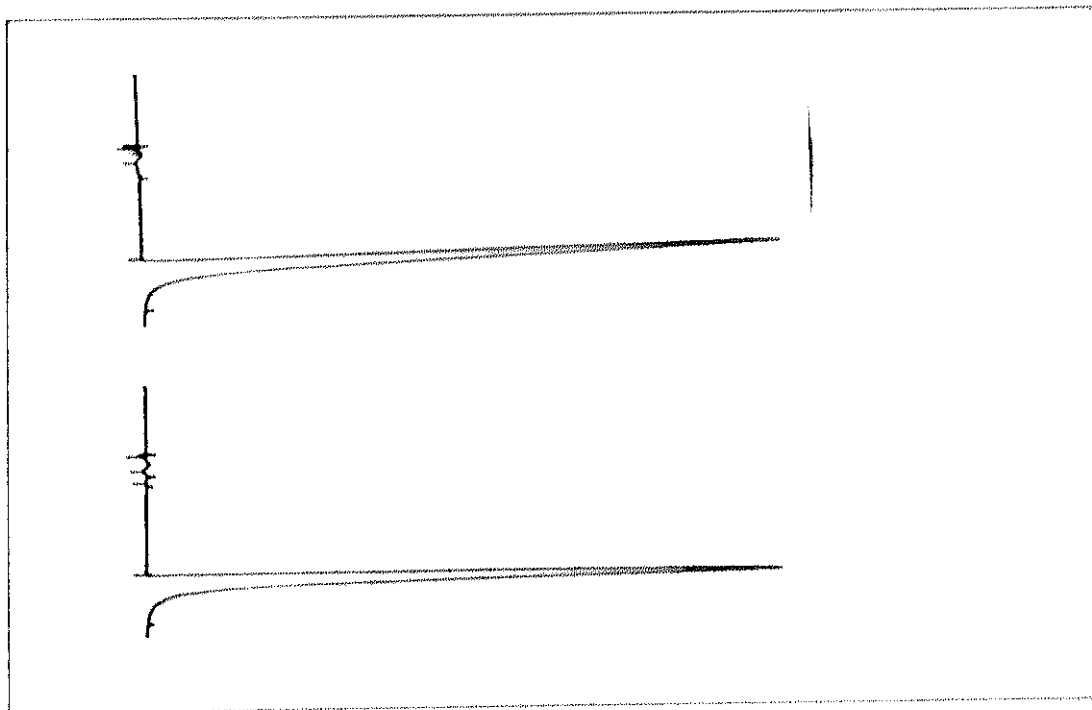


Figura 74. Cromatogramas obtenidos en la determinación cuantitativa del Amonafide en los comprimidos A-III almacenados durante 2 años.

a/ Patrón de Amonafide.

b/ Muestra problema.

Tabla CXXXIV: Estabilidad de los comprimidos A-III: resultados del tratamiento estadístico de los datos de peso, de resistencia a la fractura, de tiempo de disgregación, de los parámetros de disolución y de los datos obtenidos en la cuantificación de Amonafide.

		n	x	σ	F Snedecor	t Student	% respecto al inicial
PESO (mg)	t°	20	376,40	4,48			
	t¹	20	361,96	3,49	1,65	11,37**	96,16
R. FRACTURA (Kg)	t°	5	4,05	0,21			
	t¹	5	5,85	0,42	4,00	8,61**	144,44
T. DISGREGACION (min)	t°	6	4,49	0,30			
	t¹	6	4,01	0,80	6,94*	1,35	100,00
t0 (min)	t°	6	0,03	0,08			
	t¹	6	0,17	0,14	2,80	2,11	100,00
t70 (min)	t°	6	8,81	0,97			
	t¹	6	4,68	0,26	11,68**	10,07**	53,12
t100 (min)	t°	6	13,69	0,88			
	t¹	6	9,77	0,63	1,94	8,82**	71,37
Q 10' (%)	t°	6	79,18	6,15			
	t¹	6	99,77	0,44	196,07**	8,18**	126,00
E.D.10' (%)	t°	6	41,99	4,47			
	t¹	6	64,20	6,27	5,11*	1,11**	152,89
CONTENIDO EN P. A. (mg)	t°	20	193,58	9,27			
	t¹	20	189,56	12,63	1,86	1,15	100,00

t° = tiempo inicial
t¹ = 2 años

* 0,05 > P > 0,01

** P < 0,01

5.4.3. DISCUSION

COMPRIMIDOS CON MITONAFIDE

En la figura 75 se indica la intensidad de las variaciones producidas con el envejecimiento natural sobre los dos tipos de comprimidos con Mitonafide, expresada como porcentaje del valor del parámetro considerado después del almacenamiento respecto al valor de tiempo inicial.

Llama la atención la gran estabilidad, tanto física como química, de los dos tipos de comprimidos estudiados, M-I y M-II.

Las diferencias detectadas entre ellos se deben seguramente a la distinta técnica de elaboración empleada para cada uno.

Así, el oscurecimiento de los comprimidos M-II es menor que en los M-I. Este hecho está en concordancia con los resultados de otros trabajos, en los que se ha observado que comprimidos obtenidos previa granulación por vía húmeda convencional presentan una mayor estabilidad de color con el almacenamiento (127).

Después de dos años de almacenamiento, todas las características, excepto el color, están dentro de los límites especificados en las farmacopeas.

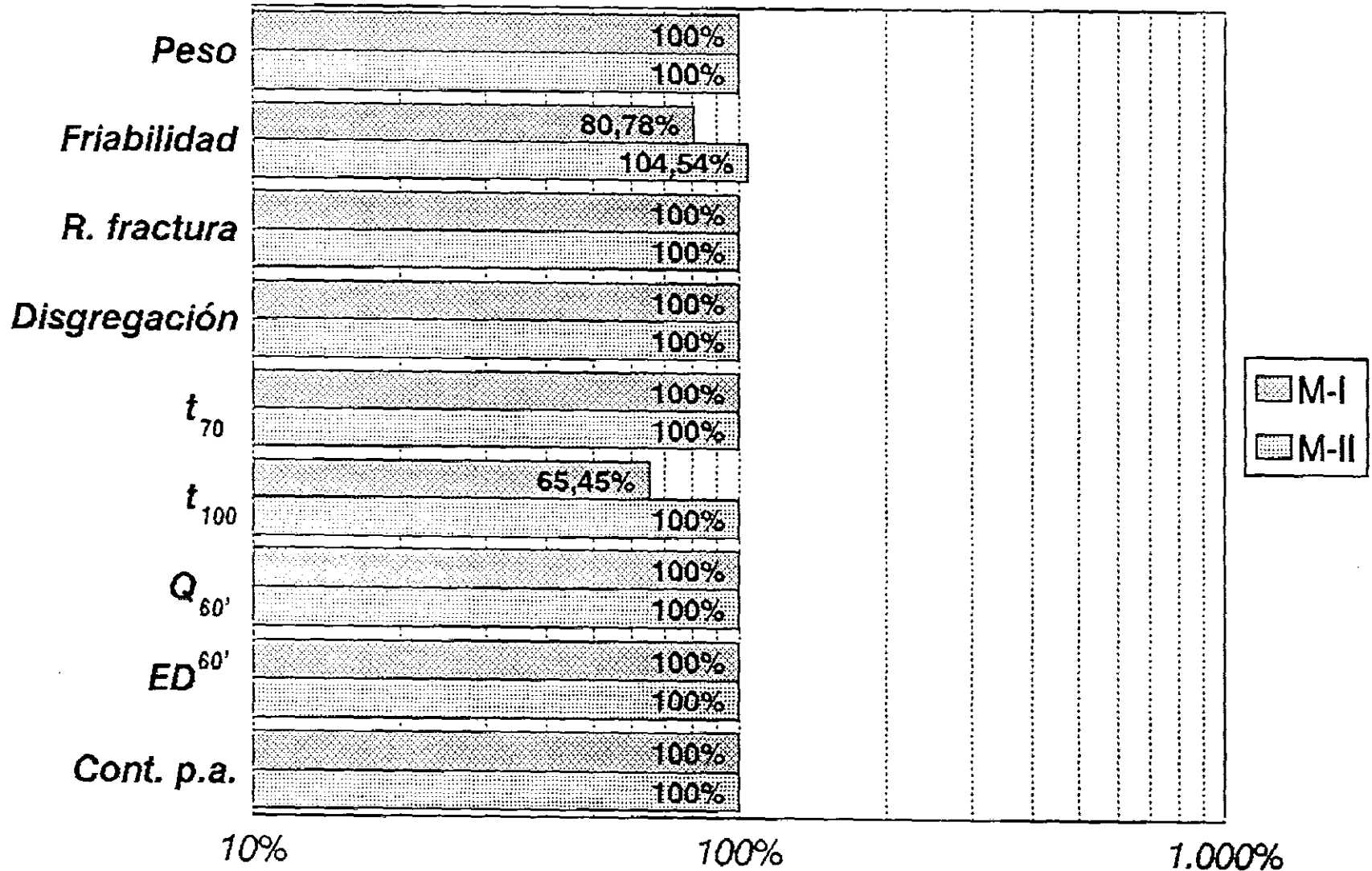


Figura 75. Intensidad de las variaciones detectadas en los comprimidos con Mitonafide (M-I y M-II) tras 2 años de almacenamiento a 22°C y 35% H.R.

COMPRIMIDOS CON AMONAFIDE.2HCl

La intensidad de las variaciones detectadas en las características físicas y químicas de los comprimidos con Amonafide.2HCl (A-I, A-II y A-III) y producidas por un almacenamiento en condiciones ambientales (22°C-35,5% H.R.) se encuentran expresadas en forma de porcentaje respecto a tiempo inicial en la gráfica de la figura 76.

Desde el punto de vista de la estabilidad física los comprimidos A-I son los menos estables respecto a la disgregación, los A-II respecto a la friabilidad y los A-III respecto al peso, resistencia a la fractura y velocidad de disolución.

En general, los comprimidos A-II son los que presentan variaciones de menor intensidad en sus características.

Las diferencias cualitativas y cuantitativas detectadas entre los tres tipos de comprimidos se deben a la composición y a la técnica de elaboración. Efectivamente, las diferencias entre A-I y A-II, cualitativas fundamentalmente, son debidas, probablemente, al elevado porcentaje de Avicel, 31,24%, de los comprimidos A-I frente al 4,96% de los A-II. Mientras que las diferencias entre A-II y A-III, cuantitativas fundamentalmente, son debidas a la distinta técnica de elaboración.

Las variaciones en la disgregación son las que mejor marcan la importancia de la distinta técnica de elaboración, ya que teniendo los tres tipos de comprimidos el mismo agente disgregante, bajo las mismas condiciones de almacenamiento, el tiempo de disgregación aumenta en los A-I y A-II, mientras que en los A-III no se modifica. Este hecho confirma la idea de que el tiempo de disgregación se ve menos comprometido cuando la técnica de elaboración no implica un granulación por vía húmeda convencional, ya que en este caso depende no sólo del desmoronamiento de la masa compacta sino que además del desmoronamiento de los gránulos (127).

Respecto a la **estabilidad química**, teniendo en cuenta que sólo en los comprimidos A-I se detecta degradación, cabe decir que la distinta formulación es la que distingue la estabilidad de unos comprimidos u otros y no la técnica de elaboración.

Vale la pena hacer hincapié en la elevada estabilidad química de los comprimidos con Emcompress como excipiente mayoritario, en estas condiciones ambientales (22°C-35%H.R.), sea cual sea la técnica de elaboración empleada.

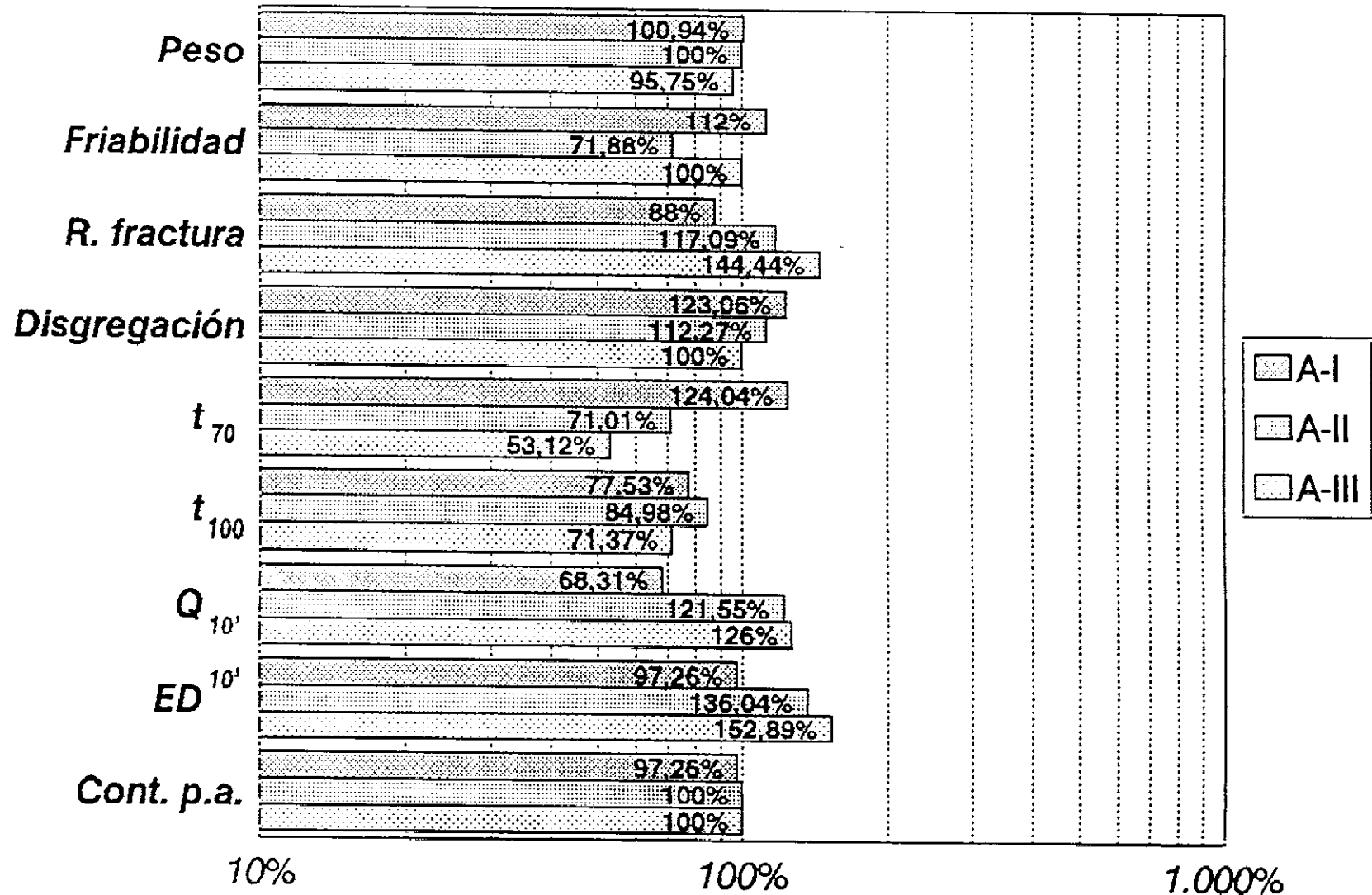


Figura 76. Intensidad de las variaciones detectadas en los comprimidos con Amonafide.2CH1 (A-I, A-II y A-III) tras 2 años de almacenamiento a 22°C y 35% de H.R.

IV. CONCLUSIONES

PRIMERA:

El método analítico propuesto, basado en la cromatografía líquida de alta resolución, para la determinación cuantitativa de Mitonafide y Amonafide.2HCl en los cinco tipos de comprimidos ensayados es válido.

SEGUNDA:

Se pone de manifiesto, una vez más, la limitada aplicación que tiene la ecuación de Arrhenius para realizar predicciones respecto a la estabilidad química de principios activos incluidos en formas farmacéuticas sólidas.

TERCERA:**Comprimidos de Mitonafide.**

a).- En general, la influencia de la humedad relativa ambiental, tanto sobre la estabilidad física como química, es escasa, dada la inercia del componente mayoritario, Mitonafide, frente a este factor de inestabilidad.

Comparando los dos tipos de comprimidos con Mitonafide, los comprimidos M-I son los más estables químicamente y los comprimidos M-II físicamente. Las características físicas de los comprimidos M-I más afectadas son la disgregación y la velocidad de disolución. Estos comprimidos contienen Explotab, disgregante que manifiesta un comportamiento higroscópico en ambientes de humedad relativa superior al 70%.

b).- Los dos tipos de comprimidos con Mitonafide presentan una elevada termostabilidad. Sus características, tanto físicas como químicas, apenas se ven afectadas cuando la temperatura de almacenamiento es inferior a 80°C. Desde el punto de vista práctico hay que destacar la modificación del aspecto ya a los 60°C.

De forma comparativa, el efecto de la temperatura elevada sobre la estabilidad de los dos tipos de comprimidos es inverso al producido por la humedad relativa ambiental: *los comprimidos M-II son los más estables químicamente y los comprimidos M-I físicamente.*

c).- Con los ensayos a tiempo real se confirma la elevada estabilidad de los comprimidos de Mitonafide ensayados.

No se pueden establecer diferencias entre ellos. Por lo tanto, desde este punto de vista, *cualquiera de ellos puede ser propuesto para su desarrollo industrial, pero, en cualquier caso, con esta recomendación:*

- utilizar un *recubrimiento* que garantice el mantenimiento del aspecto y, dada la elevada fotolabilidad del principio activo, suponga una protección eficaz contra la luz.

CUARTA:

Comprimidos de Amonafide.2HCl.

a).- La humedad relativa ambiental es un factor determinante de inestabilidad en los comprimidos que contienen Amonafide.2HCl, sustancia que presenta un comportamiento higroscópico.

Las modificaciones en el contenido en principio activo son de menor intensidad que las que se originan en las propiedades físicas, especialmente en aquellas indicativas de la variación en las características biofarmacéuticas de los comprimidos.

En ambientes de elevada humedad relativa el enlentecimiento de la disolución es de tal magnitud que resulta absurdo indicar un tipo de comprimido como el más estable.

b).- Cuando se utiliza la temperatura como factor acelerador de la inestabilidad, son las características físicas, al igual que ocurre con la humedad relativa, las que sufren una mayor alteración.

Vuelve a manifestarse la *inestabilidad biofarmacéutica* de los comprimidos con Amonafide.2HCl.

Las modificaciones en la velocidad de disolución del Amonafide.2HCl en los comprimidos A-II y A-III no guardan relación con la variación de las temperaturas, debido al comportamiento anómalo del Emcompress, excipiente mayoritario de ambos. Las diferencias cuantitativas que existen entre ellos son atribuibles a la distinta técnica utilizada en su elaboración.

Aunque los tres tipos de comprimidos ensayados son muy inestables, hay que resaltar que, en condiciones de temperatura controlada, la *alteración de los comprimidos A-I es más fácilmente previsible*.

c).- en los ensayos a tiempo real se demuestra que los comprimidos más estables, desde el punto de vista químico, son los A-II y A-III.

Puesto que los de tipo A-III presentan menor estabilidad en cuanto a sus características físicas, los comprimidos cuyo excipiente mayoritario es Emcompress elaborados mediante compresión previa granulación por vía húmeda (A-II), son los que se proponen para su desarrollo industrial. Esta propuesta va acompañada de las recomendaciones:

-Utilizar para su acondicionamiento un *material impermeable al vapor de agua*.

-Evitar, absolutamente, durante su almacenamiento y transporte las *temperaturas superiores a 45°C*.

V. BIBLIOGRAFIA

- 1.- TORRES A.I., CAMACHO M.A. (1991) "Planteamiento de un programa de preformulación y formulación de comprimidos". *Industria Farmacéutica*, Marzo/Abril, 85-92.
- 2.- LEY 25/1990, de 20 de diciembre, DEL MEDICAMENTO. B.O.E. núm.306 de 22 de Diciembre de 1990.
- 3.- <1191> "Stability considerations in dispensing practice (General Information)". En: The United States Pharmacopoeial Convention, Inc., U.S.P.23. Mack Printing Company, Rockville, 1995, p.1957-1959.
- 4.- FONNER D.E., ANDERSON N.R., BANKER G.S. (1981) "Granulation and tablet characteristics (chapter 5)". En: Lieberman H.A., Lachman L., *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, vol.2. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, p.185-267.
- 5.- COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS, COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, DIRECTORATE GENERAL, INDUSTRY (III/E-3) (1993) "Stability testing of new drug substances and products-Guidelines prepared within the International Conference on Harmonisation (ICH) process". *Documentación III/3335/92 (Final)*.
- 6.- FRANQUESA R., TOMAS M.C. (1985) "Conceptos actuales sobre estabilidad de medicamentos (capítulo 1)". En: Franquesa R., Almirall V., Alsina S., Alvarez J.L., Tomas M.C., *Estabilidad de medicamentos 1ª edición*. Ed. A.E.F.I., Barcelona, p.1-30.
- 7.- HANNA S.A. (1982) "Stability Kinetics (chapter 7)". En: Lieberman H.A., Lachman L., *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, vol.3. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, p.339-366.
- 8.- BANKER G.S., ANDERSON N.R. (1986) "Tablets (chapter 11)". En: Lachman L., Lieberman H.A., Kanig J.L., *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, 3rd edition. Lea & Febiger, Filadelfia, p.293-344.
- 9.- FRANQUESA R., ALSINA S. (1985) "Inestabilidad química (capítulo 4)". En: opus cit.6, p.147-207.
- 10.- LACHMAN L., DE LUCA P., AKERS M.J. (1986) "Kinetic Principles and Stability Testing (chapter 26)". En: opus cit.8, p.760-802.
- 11.- YOSHIOKA S., ASO Y., TAKEDA Y. (1990) "Statistical evaluation of accelerated stability data obtained at a single temperature. I. Effect

- of experimental errors in evaluation of stability data obtained". *Chem. Pharm. Bull.*, 18(6), 1757-1759.
- 12.- <1151> "Pharmaceutical Dosage Forms (General Information)". En: opus cit.3, p.1940-1951.
- 13.- ALMIRALL V. (1985) "Inestabilidad física (capítulo 3)". En: opus cit.6, p.77-145.
- 14.- CARSTENSEN J.T. (1990) "Overview (chapter 1)". En: Swarbrick J., *Drug Stability. Principles and Practices*, vol.43. *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, p.1-14.
- 15.- SHETH B.B., BANDELIN F.J., SHANGRAW R.F. (1980) "Compressed tablets (chapter 3)". En: Lieberman H.A. and Lachman L., *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, vol.1. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, p.109-185.
- 16.- MATSUNAGA Y., OKTA R., BANDO N., YAMADA M., YUASA H., KANAYA Y. (1993) "Effects of water content on physical and chemical stability of tablets containing an anticancer drug TAT-59". *Chem. Pharm. Bull.*, 41(4), 720-724.
- 17.- BOS C.E., BOLHUIS G.K., LERK C.F., DE BOER J.H., DUINEVELD C.A.A., SMILDE A.K., DOORNBOS D.A. (1991) "The use of a factorial design to evaluate the physical stability of tablets prepared by direct compression. I. A new approach based on the relative change in tablet parameters". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 37(4), 204-209.
- 18.- AHLNECK C., LUNDGREN P. (1985) "Methods for the evaluation of solid state stability and compatibility between drug and excipient". *Acta Pharm. Suecica*, 22(6), 305-314.
- 19.- SAWICKA J. (1991) "The influence of excipients and technological process on cholecalciferol stability and its liberation from tablets". *Pharmazie*, 46(7), 519-521.
- 20.- PLA DELFINA J.M., OSACH R. (1983) "Influencia de los factores físico-químicos y farmacotécnicos en la biodisponibilidad de los medicamentos (II)". *Revista A.E.F.M.*, 7(3), 221-246.
- 21.- FAROONGSARUG D., PECK G.E. (1994) "The role of liquid water uptake by an insoluble tablet containing a disintegrant". *Drug Develop. Ind. Pharm.*, 20(10), 1777-1794.

- 22.- FAROONGSARUG D., PECK G.E. (1994) "The swelling and water uptake of tablets III: moisture sorption behaviour of tablet disintegrants", *Drug Develop. Ind. Pharm.*, 20(5), 779-798.
- 23.- NYQVIST H., LUNDGREN P. (1982) "Studies on the physical properties of tablets and tablet excipients. VI. The application of accelerating test conditions to the study of water sorption and change in hardness", *Acta Pharm. Suecica*, 19(6), 401-412.
- 24.- FIESE E.F., HAGEN T.A. (1986) "Preformulation (chapter 8)". En: opus cit.8, p.171-195.
- 25.- BANKER G.S., PECK G.E., BAILEY G. (1980) "Tablet Formulation and Design (chapter 2)", En: opus cit.15, p.63-105.
- 26.- CARSTENSEN J.T. (1990) "Effect of moisture on the stability of solid dosage forms (chapter 5)". En: opus cit.14, p.191-207.
- 27.- DE HAAN P., KROON C., SAM A.P. (1990) "Decomposition and stabilization of the tablet excipient calcium-hydrogen phosphate dihydrate". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 16(13), 2031-2055.
- 28.- BOS C.E., BOLHUIS G.K., LERK C.F., DE BOER J.H., DUINEVELD C.A.A., SMILDE A.K., DOORNBOS D.A. (1991) "The use of a factorial design to evaluate the physical stability of tablets prepared by direct compression. II. Selection of excipients suitable for use under tropical storage conditions". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 37(4), 210-215.
- 29.- AHLNECK C., ALDERBORN G. (1988) "Solid state stability of acetylsalicylic acid in binary mixtures with microcrystalline and microfine cellulose". *Acta Pharm. Suecica*, 25, 41-52.
- 30.- LACHMAN L., DE LUCA P., AKERS M.J. (1986) "Kinetic Principles and Stability Testing (chapter 26)". En: opus cit.8, p.760-802.
- 31.- CARSTENSEN J.T. (1990) "Physical Testing (chapter 9)". En: opus cit. 14, p.371-393.
- 32.- HENG P.W.S., STANIFORTH J.N. (1988) "The effect of moisture on the cohesive properties of microcrystalline cellulose". *J. Pharm. Pharmacol.*, 40(5), 362-364.

- 33.- MURTHY K.S., GHEBRE-SELLASSIE I. (1993) "Current perspectives on the dissolution stability of solid oral dosage forms". *J. Pharm. Sci.*, 82(2), 113-126.
- 34.- CADORNIGA R. (1980) "Biofarmaceuticka Nestálost". *Farmaceutický obzor*, 6, 257-270.
- 35.- UDEALA O.K., OKORE V.C. (1990) "Effect of storage conditions on the physical properties and in vitro dissolution of directly compressed tablets". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 16(15), 2339-2344.
- 36.- CASAHOURSAR L., HUONG-PHAM V., LARROUTURE D., HERAUD P., ETIENNE A. (1989) "Mise en evidence por spectroscopie infrarouge des interactions affectant le temps de délitement de comprimés et la vitesse de liberation du principe actif". *Pharm. Acta Helvetiae*, 64(8), 225-230.
- 37.- DURIG T., FASSIHI A.R. (1993) "Identification of stabilizing and destabilizing effects of excipients-drug interactions in solid dosage form design". *Int. J. Pharm.*, 97(1-3), 161-170.
- 38.- ASO Y., YOSHIOKA S., TERAOKA T. (1994) "Effect of the binding of water to excipients as measured by (2)H-NMR relaxation time on cephalotin decomposition rate". *Chem. Pharm. Bull.*, 42(2), 398-401.
- 39.- LANDIN M., MARTINEZ-PACHECO R., GOMEZ-AMOZA J.L., SOUTO C., CONCEIRO A., ROWE R.C. (1993) "Influence of microcrystalline cellulose source and batch variation on the tableting behaviour and stability of prednisone formulations". *Int. J. Pharm.*, 91(2-3), 143-149.
- 40.- LANDIN M., PEREZ-MARCOS B., CASALDERREY M., MARTINEZ-PACHECO R., GOMEZ-AMOZA J.L., SOUTO C., CONCEIRO A., ROWE R.C. (1994) "Chemical stability of acetylsalicylic acid in tablets prepared with different commercial brands of dicalcium phosphate dihydrate". *Int. J. Pharm.*, 107(3), 247-249.
- 41.- WAMBOLT E., MCKNIGHT C., TURKOGLU M., SAKR A. (1993) "Comparison of two microcrystalline cellulose brands for the direct compression of hydrochlorothiazid tablets". *Pharm. Ind.*, 55(11), 1046-1051.
- 42.- JIMENEZ-CASTELLANOS M.R., MUÑOZ A. (1993) "Formas Farmacéuticas sólidas de administración oral. Comprimidos (capítulo 36)". En: Faulí i Trillo C., *Tratado de Farmacia Galénica*. Luzán 5, S.A. de Ediciones,

Madrid, p.521-542.

- 43.- CARSTENSEN J.T. (1993) "Tablets (chapter 5)". En: *Pharmaceutical Principles of Solid Dosage Forms*. Technomic Publishing Company, Inc., Pensilvania, p.63-94.
- 44.- JERZEWSKI R.L., LORDI N.G. (1994) "Water vapor diffusion in model tablet systems: II. Experiments with lactose anhydrous based tablets". *Int. J. Pharm.*, 101(1-2), 45-56.
- 45.- GHAN G.A., LALLA J.K. (1992) "Effect of compressional forces on piroxicam polymorphs". *J. Pharm. Pharmacol.*, 44(8), 678-681.
- 46.- KOPP-KUBEL S., BEYER C., GRAF E., KUBEL F., DOELKER E. (1992) "Influence of phenobarbital polymorphism on tablet characteristics". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 38(1), 17-25.
- 47.- LIN M.C., DUNCAN-HEWITT W.C. (1994) "Deformation Kinetics of acetaminophen crystals". *Int. J. Pharm.*, 106(3), 187-200.
- 48.- SNAVELY M.J., PRICE J.C., WON-JUN H. (1993) "The stability of aspirin in a moisture containing direct compression tablet formulation". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 19(6), 729-738.
- 49.- BURAT T., BULUT P., SEVIL E. (1992) "Evaluation of the stability of sultamicillin tosylate tablets by factorial analysis". *STP Pharma Sci.*, 2(4), 351-353.
- 50.- SAKR A., BOSE M., TAULBEE J. (1993) "Effect of accelerated storage conditions on the characteristics of triamterene/hydrochlorothiazide directly compressed tablets". *Pharm. Ind.*, 55(2), 180-186.
- 51.- OZER A.Y., CAKOGLU O., TAYLAN B., MAZDA F., SUMNU M. (1993) "Evaluation of the stability of commercial effervescent ascorbic acid tablets by factorial design". *STP Pharma Sci.*, 3(4), 313-317.
- 52.- JIN-TSAI W., SHIU G.K., OUG-CHEN T., VISWANATHAN C.T., SKELLY J.P. (1993) "Effects of humidity and temperature on in vitro dissolution of carbamazepine tablets". *J. Pharm. Sci.*, 82(10), 1002-1005.
- 53.- DANJO K., KATO H., OTSUKA A., WAKIMOTO T. (1993) "Influence of the moisture adsorption on volume shrinkage and diametral tensile strength of sucrose tablets". *Chem. Pharm. Bull.*, 41(12), 2147-2150 (1993).

- 54.- DEHNER E.J., SHIROMANI P.K. (1993) "Color stability. An evaluation of three natural-source colorants as components in compressed tablets". *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 19(14), 1659-1672.
- 55.- BRAÑA M.F., CASTELLANO J.M., ROLDAN C.M., SANTOS A., VAZQUEZ D., JIMENEZ A. (1980) "Synthesis and Mode(s) of Action of a new serie of Imide derivatives of 3-nitro-1,8 naphthalic acid". *Cancer Chemotherapy and Pharmacol.*, 4, 61-66.
- 56.- BRAÑA M.F., SANZ A.M., CASTELLANO J.M., ROLDAN C.M., ROLDAN C. (1981) "Synthesis and Cytostatic activity of benzo(d,e)isoquinolin-1,3-diones. Structure-activity relationships". *Eur. J. Med. Chem.*, 16, 207-212.
- 57.- ZEE-CHENG R.K.Y., CHENG C.C. (1985) "N-(aminoalkyl)imide antineoplastic agents. Synthesis and Biological activity". *J. Med. Chem.*, 28, 1216-1222.
- 58.- BRAÑA M.F., CASTELLANO J.M., ALONSO G., ROLDAN C.M., ROLDAN C. (1978) "Acción sobre cultivo de células de 6-nitrobenzo(de)isoquinoline-1,3-dionas 2-sustituídas. Relación estructura actividad cuantitativa". *Afinidad*, 105-110.
- 59.- RUBIOLS E., BEDATE H., ESPLUGUES J., GARRIDO J., ROLDAN C.M. (1983) "Pharmacological study of Mitonafide "in vitro" and "in vivo". *J. Pharmacol.*, 14, 632-636.
- 60.- NISHIO A., UYCKI E.U. (1983) "Induction of DNA strand breaks and chromosome abnormalities by an imide derivative of 3-nitro-1,8-naphthalic acid (Mitonafide) in chinese hamster ovary cells". *J.N.C.I.*, 70, 1097-1102.
- 61.- PAUL K.D., NASR M., NARAYANAN V.L. (1984) "Computer Assisted structure-activity correlations, evaluation of benzo(de)isoquinoline-1,3-diones and related compounds as antitumor agents". *Arzneim. Forsch./Drug Res.*, 43(II), 1243-1246
- 62.- AJANI J.A., SPITZER G., TOMASOVIC B., DREWINKO B., HUG V.M., DICKE K. (1986) "In vitro" cytotoxic patterns of standard and investigational agents on human bone marrow granulocyte-macrophage progenitor cells". *Br. J. Cancer*, 54, 607-613.

- 63.- ANDERSSON B.S., BERAN M., BAKIC M., SILBERMAN L.E., NEWMAN R.A., ZWELLING L.A. (1987) "In vitro" Toxicity and DNA-cleaving capacity of benzoisoquinolinedione (nafidimide, NSC-308847) in human leukemia". *Cancer Res.*, 7, 1040-1044.
- 64.- AJANI J.A., BAKER F.L., SPITZER G. (1988) "In vitro" activity of Amonafide against primary human tumors compared with the activity of standard agents". *Invest. New Drug*, 6, 79-85.
- 65.- WARING M.J., GONZALEZ A., JIMENEZ, A., VAZQUEZ D. (1979) "Intercalative binding to DNA of antitumor drugs derived from 3-nitro-1,8-naphthalic acid". *Nucleic Acids Res.*, 7, 217-231.
- 66.- FEIGON J., DENNY W.A., LEUPIN W., KEARS D.R. (1984) "Interactions of antitumor drugs with natural DNA: ¹H NMR study of binding mode and kinetics". *J. Med. Chem.*, 27, 450-465.
- 67.- STEVENSON K.A., YEN S., YANG N., BOYKIN D.W., WILSON D. (1984) "A substituent constant analysis of the interaction of substituted naphthalene monoimides with DNA". *J. Med. Chem.*, 27, 1677-1682.
- 68.- SINHA B.K., STRONG J., GIBSON N.W., KALYANARAMAN B. (1985) "Mechanism of DNA strand breaks by Mitonafide, an imide derivative of 3-nitro-1,8-naphthalic acid". *Biochem. Pharmacol.*, 34, 3845-3852.
- 69.- HSIANG Y.H., JIANG J.B., LIU L.F. (1989) "Topoisomerase II-mediated DNA cleavage by Amonafide and its structural analogs". *Mol. Pharmacol.*, 36, 371-376.
- 70.- LEIBY J.M., STAUBUS A.E., MALSPEIS L., GREVER M.R. (1986) "Benzisoquinolinedione: A clinical phase I study". *Proc. AACR*, 27, 249-261.
- 71.- SEWA S.L., SIGRID R. (1987) "Phase I clinical investigation of benzoisoquinolinedione". *Cancer Treat. Rep.*, 71, 1165-1169.
- 72.- FELDER T.B., MCLEAN M.A., VESTAL M.L. (1987) "Pharmacokinetics and metabolism of the antitumor drug Amonafide (NS-308847) in humans". *Drug Metab. Dispos.*, 15, 773-778.
- 73.- SAEZ R., CRAIG J.B., KUHN J.G., WEISS R. (1989) "Phase I clinical investigation of Amonafide". *J. Clin. Oncol.*, 7, 1351-1358.

- 74.- LEICHMAN C.G., TANGEN C., MACDONALD J.S., LEIMERT T., FLEMING T.R. (1993) "Phase II trial of Amonafide in advanced pancreas cancer: A Southwest Oncology Group study". *Invest. New Drugs*, 11(2-3), 219-221.
- 75.- SLAVICK M., KOPECKY K.J., SONDAK V., CRAIG J.B., SAMSON M.K. (1993) "Evaluation of Amonafide in disseminated malignant melanoma: A Southwest Oncology Group study". *Invest. New Drugs*, 11(2-3), 223-226.
- 76.- ASBURY R.F., BLESSING J.A., LOOK K.Y., CLARKE-PEARSON D., HOMESLEY H.D. (1993) "A gynecologic oncology group II study of Amonafide (NSC 308847) in epithelial ovarian cancer". *American J. Clin. Oncol.*, 16(6), 529-531.
- 77.- BUYS S.S., METCH B., BALCERZAK S.P., NEEFE J.R., STUCKEY W.J. (1994) "Phase II evaluation of Amonafide in advanced sarcoma: A Southwest Oncology Group study". *Cancer Invest.*, 12(4), 399-402.
- 78.- KORNEK G., RADERER M., DEPISCH D., HAIDER K., FAZENY B., DITTRICH C., SCHEITHAUER W. (1994) "Amonafide as first-line chemotherapy for metastatic breast cancer". *Eur. J. Cancer*, 30A(3), 398-400.
- 79.- WONG K., HENDERSON I.C. (1994) "Management of metastatic breast cancer". *World J. Surg.*, 18(1), 98-111.
- 80.- MARSCHKE R.F. Jr., WIEAND H.S., O'CONNELL M.J., RUBIN J., SCHUTT A.J., BURCH P.A., KOVACH J.S. (1994) "Advanced colorectal adenocarcinoma: treatment with Amonafide" (letter). *J. National Cancer Inst.*, 86(12), 944-945.
- 81.- ASBURY R.F., BLESSING J.A., SOPER J.T. (1994) "A gynecologic oncology group phase II study of Amonafide (NSC 308847) in squamous cell carcinoma of the cervix". *American J. Clin. Oncol.*, 17(2), 125-128.
- 82.- MALVIYA V.K., LIU P.Y., O'TOOLE R., ALBERTS D.S., SURWIT E., ROSENOFF S., WARD J.H., YU A., O'SULLIVAN J., CRAIG J.B. (1994) "Phase II trial of Amonafide in patients with advanced metastatic or recurrent endometrial adenocarcinoma: A Southwest Oncology Group study". *American J. Clin. Oncol.*, 17(1), 37-40.
- 83.- BRAÑA M.F., CASTELLANO J.M., MORAN M., PEREZ DE VEGA M.J., ROMERDAHL C.R., QIAN X.D., BOUSQUET P., EMLING F., SCHLICK E., KEILHAUER G. (1993) "Bis-naphthalimides: A new class of antitumor agents". *Anticancer Drug Des.*, 8(4), 257-268.

- 84.- MILLER K.E., GRACE J.M., MACDONALD T.L. (1994) "The stabilization of DNA topoisomerase II cleavable complex by Mitonafide analogs". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 4(13), 1643-1648.
- 85.- KOBAYASHI K., JODRELL D.I., RATAIN M.J. (1993) "Pharmacodynamic-pharmacokinetic relationships and therapeutic drug monitoring". *Cancer Surv.*, 17, 51-78.
- 86.- TORRES A.I., CAMACHO M.A. (1992) "Validation of two analytical methods applied to two new cytostatic drugs". *S.T.P. Pharma Pratiques*, 2(2), 93-99.
- 87.- TORRES A.I., CAMACHO M.A. (1993) "Photolability evaluation of the new cytostatic drug Mitonafide". *Arzneim. Fors./Drug Res.*, 44(I), 81-83.
- 88.- CAMACHO M.A., TORRES A.I., SANZ M.P. (1989) "Estabilidad de disoluciones de Amonafide frente a la luz y la temperatura". *C.I.F.*, 8 (2ª época), 104-109.
- 89.- TORRES A.I., SANZ M.P., CAMACHO M.A. (1987) "Estudio de estabilidad de un nuevo anticanceroso (Mitonafide)". En: *Actas del III Congreso Internacional de Ciencias Farmacéuticas, Symposium V, Farmacia Industrial*. Barcelona, p.1772-1784.
- 90.- RIVERA P., GONZALEZ FERNANDEZ E., MARTIN F.R., BRAÑA M.F. (1986) "The pharmacokinetics, tissue distribution and biotransformation of a new class of antitumor agents: Mitonafide and Pinafide". *Europ. J. Drug Metab. and Pharmacokinet.*, 11, 255-267.
- 91.- GONZALEZ E., MARTINEZ-LARRAÑAGA M.R., BARRIGON S., RIVERA P., PEREZ A., GARCIA DE JALON P.D. (1981) "Pharmacokinetic and tissue distribution of the HMADE-4212". *Congr. Eur. Biopharm. Pharmacokinet.*, 2, 117-125.
- 92.- TORRES A.I., GIL M.E., CAMACHO M.A. (1994) "Pharmaceutical development of tablets of a new antineoplastic drug: Mitonafide". *Pharm. Acta Helvetiae*, 69, 101-105.
- 93.- TORRES A.I., GIL M.E., CAMACHO M.A. (1995) "Design and formulation of tablets of a new antineoplastic drug: Amonafide". *Drug Develop. and Ind. Pharm.*, 21(2), 185-197.
- 94.- TORRES A.I., CAMACHO M.A. (1992) "Studies about the oral bioavailability of Mitonafide and 2ClH Amonafide, two new cytotoxic

- molecules". *Il Farmaco*, 47(4), 497-508.
- 95.- TORRES A.I., CAMACHO M.A. (1991) "The behaviour under atmospheric humidity of two benzoisoquinolinediones (Mitonafide and 2ClH Amonafide)". *Il Farmaco*, 46(9), 1091-1096.
- 96.- TORRES A.I., CAMACHO M.A. (1994) "Solid-state interactions of two new antineoplastic drugs (Mitonafide and Amonafide) and common tablet excipients in preformulation studies". *European J. Pharm. Biopharm.*, 40(1), 41-43.
- 97.- CARSTENSEN J.T. (1993) "Stability of solid dosage forms (chapter 7)". En: opus cit.43, p.105-129.
- 98.- FRANQUESA R. (1977) "Determinación de la fecha de caducidad de medicamentos mediante corto almacenamiento a la temperatura ambiente". *Ciencia e industria farmacéutica*, 9 (7-8), 183-192.
- 99.- MONOGRAFIA DE A.E.F.I. (Sección Centro) (1993) "Desarrollo de un estudio de estabilidad". Madrid.
- 100.- PLA DELFINA J.M., OBACH R. (1982) "Influencia de los factores físico-químicos y farmacotécnicos en la biodisponibilidad de los medicamentos". *Revista A.E.F.H.*, 6(3), 247-275.
- 101.- CARSTENSEN J.T. (1993) "Absorption attributes of a dosage form (chapter 1)". En: opus cit.43, p.1-13.
- 102.- LAMPARTER E., LUNKENHEIMER CH., SEIBEL U., VOB H. (1991) "New fully-automated system for dissolution rate of solid oral and sustained-release dosage forms according to the paddle method of United States Pharmacopoeia and Pharmacopoeia Europaea", *Die Pharmazeutische Industrie* 53(3), 277-281.
- 103.- CARSTENSEN J.T., RHODES C.T. (1993) "Cyclic temperature stress testing of pharmaceuticals". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 19(3), 401-403.
- 104.- CIOFFI F., COHEN E.M., BADICK R., CARSTENSEN J.T. (1993) "Effect of freezer programs on real-time storage results of dissolution profiles". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 19(14), 1741-1746.
- 105.- TORRES A.I. (1990) "Desarrollo galénico (preformulación y formulación) de comprimidos de dos nuevos anticancerosos". Tesis

- Doctoral. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad Complutense de Madrid.
- 106.- CASTRO M., GASCON S., PUJOL M., SANS J.M., VICENTE L. (1989) *Validación de métodos analíticos*. Monografía A.E.F.I., Barcelona.
- 107.- DALMAU R., SUÑE J.M., CEMELI J. (1989) "Control de calidad en la industria farmacéutica: concepto de validación". *Industria Farmacéutica*, Mayo/Junio, 85-90.
- 108.- CEMELI J. (1993) "Validación de procesos y analítica de medicamentos (capítulo 7)". En: Faulí i Trillo C., *Tratado de Farmacia Galénica*. Luzán 5, S.A. de Ediciones, Madrid, p.115-123.
- 109.- DIRECTIVA DE LA COMISION de 13 de Junio de 1991 por la que se establecen los principios y directrices de las prácticas correctas de fabricación de los medicamentos de uso humano (91/356/EEC). *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, N°L 193, 17 de Julio de 1991, p.30-33.
- 110.- <1225> "Validation of Compendial Methods (General Information)". En: opus cit.3, p.1982-1984.
- 111.- ORDEN MINISTERIAL de 19 de abril de 1985. *B.O.E. núm.103* de 30 de Abril de 1985.
- 112.- CALPENA A.C., ESCRIBANO E., FERNANDEZ C. (1990) "Validación de los métodos analíticos". *Farmacia Clínica*, 7(9), 749-758.
- 113.- CEMELI J. (1985) "La validación: una filosofía, un sistema". *C.I.F.*, 4 (2ªép.), 220-226.
- 114.- FRANQUESA R. (1990) "Descripción de un programa de ordenador para validación de métodos analíticos". *Industria Farmacéutica*, Marzo/Abril, 101-105.
- 115.- DIRECCION GENERAL DE INDUSTRIA DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS (1987) "Validación del método analítico". *Documentación III/844/87* (Acto preparatorio).
- 116.- CAMACHO M.A., TORRES A.I., GIL M.E., OBREGON M.M., RUZ V. (1993) "Validation Protocol of analytical methods for finished pharmaceutical products". *S.T.P. Pharma Pratiques*, 3(3), 197-202.

- 117.- CAMACHO M.A., TORRES A.I., GIL M.E., OBREGON M.M., RUZ V. (1994) "Qualitative and quantitative determination of two new antitumor agents from 1-8 Naphtalimides in tablets/Validation of a high performance liquid chromatography method". *Arzneim. Fors./Drug res.*, 44(I), 659-662.
- 118.- FONTANI F., PRELINI R., RONCHI M.C., ZANOTTI A. (1987) "Criteri di convalida dei metodi d'analisi". *Boll. Chim. Farm.*, 126, 66-74.
- 119.- United States Pharmacopoeia 23 (1995) The United States Pharmacopoeial Convention, Inc. Mack Printing Company, Rockville.
- 120.- European Pharmacopoeia vol.1 (1986) Council of Europa. Maisonneuve S.A., Sainte Ruffine.
- 121.- British Pharmacopoeia (1993) British Pharmacopoeia Commission. Her Majesty's Stationery Office, London.
- 122.- <1216> "Tablet friability (General Information)". En: opus cit.3, p.1981.
- 123.- RIDGWAY P. (1988) "Post-compressional measurements (chapter 19)". En: *Tablet machine instrumentation in pharmaceuticals: Principles and practice*. Ellis Horwood Limited, England, p.357-396.
- 124.- <1088> "In vitro and in vivo evaluation of dosage forms (General Information)". En: opus cit.3, p.1924-1925.
- 125.- GOTTFRIES J., AHLBOM J., HARANG V., JOHANSSON E., JOSEFSON M., MORSING T., PETTERSSON A., TORSTENSSON A. (1994) "Validation of an extended release tablet dissolution testing system using design and multivariate analysis". *Int. J. Pharm.*, 106(2), 141-148.
- 126.- WEAST R.C. (1984-85) "General Physical Constants (Section E)". En: Weast R.C., Astle M.J., Beyer W.H., *Handbook of Chemistry and Physics 65th edition*. C.R.C. Press, Inc., Boca Ratón, p.E-42.
- 127.- SHANGRAW R. (1991) "Formulation of tablets. Role of excipients" University of Maryland, School of Pharmacy. Comunicación personal.
- 128.- MCGINITY J.W., STAUCHANSKY S.A., MARTIN A. (1981) "Bioavailability in tablet technology (chapter 6)". En: opus cit.4, p.269-450.

- 129.- CARSTENSEN J.T. (1990) "Solid-State Stability (chapter 4)" En: opus cit.14, p.129-164.
- 130.- ROIG M.G. (1993) "Errores experimentales ó pesos estadísticos, análisis de residuales, diseño de experimentos". Curso práctico sobre *Modelización matemática y ajuste de datos por ordenador en ciencias de la vida*. Salamanca.
- 131.- WADE A., WELLER P.J. (1994) "Lactose". En: *Handbook of pharmaceutical excipients, 2nd edition*. American Pharmaceutical Association, Washington, y Pharmaceutical Press, London, p.252-261.
- 132.- WADE A., WELLER P.J. (1994) "Dibasic Calcium Phosphate Dihydrate". En: opus cit. 131, p.56-60.