

Presidentes:
Dr. Cadorniga

Vocales:
Dr. Martinez Pacheco

Dr. Guzman

Dr. Alonso Gonzalez

Secretario:
Dr. Fuertes Caballero

Reunido, en el día de hoy, el Tribunal que al
margin se expresa, para juzgar esta tesis doctoral,
acordó por..... calificarla

Madrid, de de 19.....

El Secretario del Tribunal

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

DESARROLLO DEL PROGRAMA DE PREFORMULACION
DE UN NUEVO ANALGESICO: LOBUPROFENO

Memoria presentada para optar al grado de Doctor por:

Leonor González Tavares

Dirigida por:

M^a Antonia Camacho Sánchez

INDICE

	Página
1. <u>MATERIALES</u>	47
1.1. <u>SUSTANCIAS ACTIVAS, EXCIPIENTES, REACTIVOS Y DISOLVENTES</u>	48
1.2. <u>INSTRUMENTOS Y UTILLAJE</u>	51
2. <u>PUESTA A PUNTO DE LA METODOLOGIA ANALITICA</u> ..	55
2.1. <u>ESTUDIO DE LA ABSORTIVIDAD, ABSORTIVIDAD MOLAR Y $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ PARA EL LOBUPROFENO Y LOS PRODUCTOS RESULTANTES DE SU HIDROLISIS</u> .	58
2.1.1. METODO	62
2.1.1.1. Selección de la longitud de onda analítica	62
2.1.1.2. Absortividad, absortividad molar y $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ del Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcanol	63
2.1.2. RESULTADOS Y COMENTARIOS	64
2.2. <u>ESTUDIO ANALITICO CUALITATIVO</u>	72
2.2.1. Cromatografía en capa fina	72
MÉTODO	72
RESULTADOS Y COMENTARIOS	73
2.2.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC)	74

	Página
2.2.2.1. Estudio de la separación en función de la columna empleada	76
MÉTODO	76
RESULTADOS Y COMENTARIOS	77
2.2.2.2. Estudio de la separación en función de la fase móvil empleada	78
MÉTODO	79
RESULTADOS Y COMENTARIOS	80
2.3. <u>ANÁLISIS CUANTITATIVO, VALIDACION DE LOS MÉTODOS DE ESPECTROFOTOMETRIA UV Y CRO- MATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLU- CION EN FASE REVERSA (RP-HPLC)</u>	94
2.3.1. MÉTODO	96
2.3.1.1. Parámetros de validación	96
2.3.1.2. Tratamiento de datos ...	104
2.3.1.3. Condiciones de análisis.	104
2.3.1.3.1. Espectrofoto- metría UV ...	104
2.3.1.3.2. Cromatografía de líquidos de alta reso- lución	104
2.3.2. RESULTADOS	105
2.3.3. COMENTARIOS	108

	Página
2.4. <u>RESUMEN Y DESCRIPCION DE LOS METODOS SELECCIONADOS PARA EL ANALISIS DEL LOBUPROFENO</u> ...	121
2.4.1. ANALISIS CUALITATIVO	121
Cromatografía en capa fina	121
2.4.2. ANALISIS CUANTITATIVO	122
2.4.2.1. Espectrofotometría U.V.	122
2.4.2.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC)	123
3. <u>PREFORMULACION</u>	125
3.1. <u>CARACTERISTICAS FISICAS Y FISICO-QUIMICAS QUE PUEDEN AFECTAR AL DESARROLLO DE LA FORMA FARMACEUTICA</u>	126
3.1.A. <u>DE INTERES GENERAL</u>	126
3.1.A.1. <u>FORMA, TAMAÑO DE PARTICULA Y SUPERFICIE ESPECIFICA</u>	126
3.1.A.1.1. Forma	126
MÉTODO	127
RESULTADOS Y COMENTARIOS	128
3.1.A.1.2. Tamaño de partícula y superficie específica	131
MÉTODO	133
RESULTADOS Y COMENTARIOS	138

	Página
3.1.A.2. <u>SOLUBILIDAD</u>	147
3.1.A.2.1. Solubilidad en disolventes no acuosos ...	147
MÉTODO	148
RESULTADOS Y COMENTARIOS	148
3.1.A.2.2. Relación solubilidad-constante dieléctrica	149
MÉTODO	150
RESULTADOS Y COMENTARIOS	151
3.1.A.2.3. Relación solubilidad-pH	151
MÉTODO	152
RESULTADOS Y COMENTARIOS	153
3.1.A.2.4. Influencia de agentes solubilizantes	153
MÉTODO	154
RESULTADOS Y COMENTARIOS	155
3.1.A.3. <u>VELOCIDAD DE DISOLUCION</u>	165
3.1.A.3.1. Velocidad de disolución a diferentes valores de pH	169
MÉTODO	169
RESULTADOS Y COMENTARIOS	171
3.1.A.3.2. Velocidad de disolución en función del tamaño de partícula	172

	Página
MÉTODO	173
RESULTADOS Y COMENTARIOS	173
3.1.A.4. <u>POLIMORFISMO</u>	189
MÉTODO	190
RESULTADOS Y COMENTARIOS	191
3.1.A.5. <u>CONSTANTE DE IONIZACION, DETERMINACION DEL VALOR APROXIMADO DEL PK_a</u>	197
MÉTODO	202
RESULTADOS Y COMENTARIOS	204
3.1.A.6. <u>ESTUDIO DE LA LIPOFILIA. DETERMINACION DEL LOG P</u>	214
3.1.A.6.1. Cálculo del log P por el método de Hansch-Leo	217
3.1.A.6.1.1. Cálculo del log P del Lobuprofeno monohidrocloruro	217
3.1.A.6.1.2. Cálculo del log P del Lobuprofeno base libre	218
3.1.A.6.2. Determinación del log P por el método del matraz vibrante (shake-flask)	219
MÉTODO	220
RESULTADOS	221
3.1.A.6.3. Determinación del log P por cromatografía de líquidos de alta resolución (fase reversa)	222

	Página
MÉTODO	225
RESULTADOS	227
3.1.A.6.4. COMENTARIOS	227
3.1.A.7. <u>HIGROSCOPICIDAD, ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO</u> <u>FRENTE A LA HUMEDAD</u>	234
MÉTODO	236
RESULTADOS Y COMENTARIOS	239
3.1.B. <u>CARACTERISTICAS FISICAS DE INTERÉS PARA UN</u> <u>POSTERIOR PLANTEAMIENTO DE FORMULACION DE</u> <u>FORMAS SOLIDAS</u>	246
3.1.B.1. <u>DENSIDAD, POROSIDAD E INDICE DE CARR DE</u> <u>COMPRESIBILIDAD</u>	246
3.1.B.1.1. MÉTODO	249
3.1.B.1.1.1. Densidad aparente e Índice de Carr de compresibilidad	249
3.1.B.1.1.2. Densidad real	251
3.1.B.1.1.3. Porosidad	253
3.1.B.1.2. RESULTADOS Y COMENTARIOS	254
3.1.B.2. <u>PROPIEDADES DE FLUJO</u>	259
MÉTODO	262
RESULTADOS Y COMENTARIOS	264

	Página
3.2. <u>CARACTERÍSTICAS DE ESTABILIDAD</u>	267
3.2.1. MÉTODO	275
3.2.1.1. Preparación de muestras y condiciones de almacenamiento	275
- Estabilidad en disolventes de granulación	275
- Influencia de la luz sobre el Lobuprofeno en disolu- ción	275
- Estabilidad del Lobuprofeno al estado sólido	276
- Compatibilidad con exci- pientes	277
3.2.1.2. Estabilidad física	278
3.2.1.3. Estabilidad química. Análisis de las muestras y tratamiento de datos	278
3.2.2. RESULTADOS Y COMENTARIOS	279
IV.- <u>CONCLUSIONES</u>	327
V.- <u>BIBLIOGRAFIA</u>	333
VI.- <u>ANEXOS</u>	350

I . - I N T R O D U C C I O N

1. PROGRAMA DE INVESTIGACION PARA LA OBTENCION DE UN NUEVO MEDICAMENTO CON ACTIVIDAD ANALGESICA

El desarrollo de nuevos productos farmacéuticos comprende una serie de procesos altamente especializados que conllevan una importante inversión económica, de personal y de tiempo. Por ello, se hace necesario el planteamiento de un programa que coordine todas las fases del estudio, tanto preclínicas como clínicas, de una forma coherente, de modo que, con los resultados obtenidos, se llegue paso a paso a la elaboración de una forma farmacéutica óptima para su comercialización con garantías de éxito⁽¹⁾.

Se han descrito⁽²⁾ dos tipos básicos de diagramas de flujo, que contemplan las distintas etapas para la obtención de un nuevo medicamento. En el primero de ellos se identifica a la sustancia en una evaluación primaria, sometiéndola posteriormente a una serie de pruebas para establecer su eficacia y especificidad a un nivel preclínico. En el segundo tipo, que es un diagrama costo-eficacia, se sigue un criterio vale/no vale, propiciando un acercamiento entre los intereses de las dos partes que intervienen en el proyecto, por un lado los científicos e

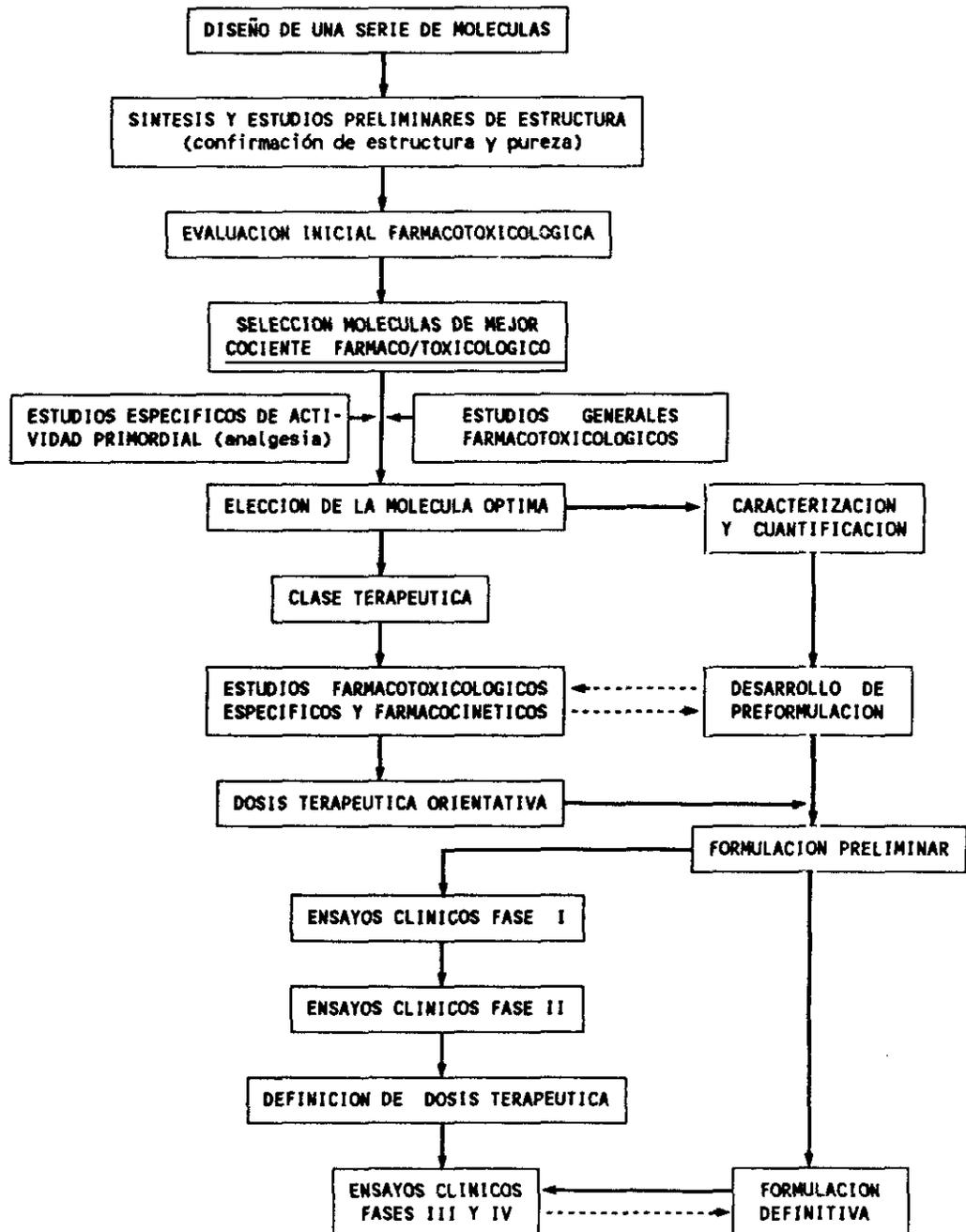
investigadores y por otro lado los promotores del mismo, en lo que se refiere a coste, eficacia y expectativas del producto.

La posibilidad de variación dentro de cada uno de los dos tipos básicos descritos es muy amplia, debiendo cada grupo de investigación elaborar su propio proyecto de acuerdo a sus necesidades, considerando fundamentalmente los dos factores limitantes para el mismo: factor económico y factor tiempo.

En el esquema 1 se presenta la secuencia de etapas planteadas por el equipo de investigación para el desarrollo del Lobuprofeno, desde la primera idea que surge para el diseño de una serie de moléculas hasta su comercialización en la forma farmacéutica óptima.

No es el objetivo de esta Memoria el realizar un estudio exhaustivo de este programa, sin embargo, sí puede resultar interesante describir brevemente su aplicación.

La actividad analgésica no narcótica de algunos ácidos fenilalcanoicos, tales como el 2-(4-isobutilfenil)propiónico (Ibuprofeno) y el 2-(4-isobutilfenil)butírico (Butibufeno), puede ser potenciada mediante la



Esquema 1. Planteamiento de las distintas etapas para el estudio de nuevas moléculas desde su diseño hasta su comercialización.

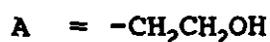
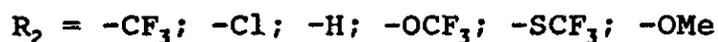
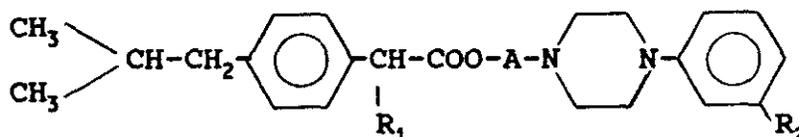
esterificación con derivados de los fenilpiperazinilalcanoles, con el fin de obtener una sinergia de efectos. Manoury⁽³⁾ y Rovei⁽⁴⁾ investigaron la esterificación de algunos ácidos quinoleín antranílicos, utilizados como analgésicos antiinflamatorios, con determinados fenilpiperazinilalcanoles, llegando a la conclusión de que se obtienen compuestos de actividad analgésica superior a la de los componentes individuales, así como de una actividad antiinflamatoria reducida, siendo su potencial ulcerogénico menor, gozando de una mayor absorción como consecuencia de su liposolubilidad.

Investigaciones farmacocinéticas y metabólicas en rata⁽⁵⁾, perro⁽⁶⁾ y en el hombre⁽⁷⁾, han demostrado que estas moléculas se absorben y se hidrolizan totalmente "in vivo".

Estos antecedentes fundamentan la esterificación de los ácidos fenilalcanoicos y fenilpiperazinilalcanoles, dando lugar a compuestos de estructura general como la expresada en el esquema 2.

Estudios de relación estructura química:actividad farmacológica han puesto de manifiesto que incrementando la longitud de la cadena carbonada en dos átomos de

carbono o introduciendo algún sustituyente que ramifique la cadena, se obtienen moléculas que exhiben una determinada actividad analgésica.



Esquema 2: Estructura general de compuestos resultantes de la esterificación de ácidos fenilalcanoicos y de fenilpiperazinilalcanoles.

Asimismo, en diferentes tests de analgesia⁽⁸⁾ se comprobó que la mayor actividad de los derivados 1-etanol-4-fenilpiperazina corresponde al orden:



En base a lo expuesto, se sintetizaron dos series de esterres derivados del Butibufeno y del Ibuprofeno con los fenilpiperaziniletanoles teóricamente mas activos, obteniéndose una serie de productos sobre los que se realizó una evaluación inicial farmacotoxicológica, que permitió la selección de dos de ellos por responder al mejor cociente fármaco/toxicológico. Tras la realización de los correspondientes estudios específicos de actividad primordial, así como los estudios generales farmacotoxicológicos, resultó ser el Lobuprofeno (clorhidrato de 2-(4-isobutilfenil) propionato de 2-[N-(3-clorofenil)piperazinil] etilo) la molécula óptima entre todas las inicialmente planteadas.

En este punto y paralelamente a la consecución de las pruebas necesarias para completar el conocimiento farmacotoxicológico y farmacocinético de la molécula seleccionada, surge la necesidad de complementar los estudios para su caracterización y cuantificación, así como de iniciar el desarrollo de preformulación.

2. PROGRAMA DE LA FASE DE PREFORMULACION

Se entiende por desarrollo galénico la aplicación armónica y secuencial de un conjunto de conocimientos, métodos y procesos que tienen por finalidad la elaboración de formas farmacéuticas. Para alcanzar este fin es necesario partir de un profundo estudio del principio activo como tal materia prima y de las alteraciones físicas y/o químicas que se puedan producir al asociarlo con sustancias auxiliares que frecuentemente se emplean en la elaboración de una forma farmacéutica. El conocimiento de todos estos datos forma parte de los estudios de preformulación⁽⁹⁾.

El tipo de información a obtener dependerá de los objetivos del programa de formulación, es decir, de la forma farmacéutica que se quiera desarrollar⁽¹⁰⁾.

En el caso del Lobuprofeno y por pertenecer al grupo terapéutico de los analgésicos, se proyectan como vías de administración la vía oral y la parenteral, aunque la viabilidad de esta última dependerá de su posible vehiculación. La elección de una u otra forma de dosificación estará supeditada a la biodisponibilidad del fármaco en la

forma farmacéutica, a su tolerancia y, consecuentemente, a la búsqueda de recursos tecnológicos para paliar los problemas que se presenten, a la vez que se consideren también para dicha elección otros dos factores, tales como el proceso tecnológico y la forma más aceptada en el mercado para este grupo terapéutico.

Según los factores expuestos, se consideran para el Lobuprofeno dos posibles formas farmacéuticas: comprimidos y soluciones inyectables, y sobre esta base se desarrolla el programa de preformulación a partir del cual se obtendrán datos físico-químicos y de estabilidad que junto con los datos farmacológicos y biofarmacéuticos nos permitirán definir cuál es la fórmula óptima, la más estable y la que garantiza mayor biodisponibilidad.

En el planteamiento de un programa de preformulación se han de considerar, además del grupo terapéutico al que pertenece el principio activo, los datos físico-químicos de que se dispone y aquellos otros de interés obtenidos en la ejecución del programa general de desarrollo de la molécula. Así pues, se ha de elaborar un sumario que responda a los siguientes puntos:

- CLASE TERAPEUTICA

- NOMBRE QUIMICO, ESTRUCTURA Y PESO MOLECULAR

- CARACTERIZACION Y CUANTIFICACION

Análisis de los elementos

Espectroscopía de absorción

- Ultravioleta

- Infrarroja

Resonancia magnética nuclear

Espectro de masas

Cromatografía de líquidos de alta resolución

Otras técnicas: Análisis térmico diferencial, reacciones químicas características, rotación óptica, cromatografía de gases, etc.

- CARACTERISTICAS FARMACOTOXICOLOGICAS Y FARMACOCINETICAS

A partir de todos los datos disponibles se elabora un programa de preformulación que incluye los siguientes estudios:

- DESARROLLO DE PREFORMULACION

CARACTERISTICAS FISICAS Y FISICO-QUIMICAS

Propiedades organolépticas: color, olor, sabor

Punto de fusión

Forma, tamaño de partícula y superficie específica

Propiedades cristalinas y polimorfismo

Constante de ionización

Coefficiente de reparto

Higroscopicidad

Solubilidad

Velocidad de disolución

Densidad, porosidad y compresibilidad

Propiedades de flujo

CARACTERISTICAS DE ESTABILIDAD

Estabilidad en disolución

Estabilidad al estado sólido

Compatibilidad con excipientes

Existe numerosa bibliografía que trata en profundidad cada uno de los puntos descritos en este programa⁽⁹⁻¹⁵⁾, por lo que a continuación se procede a un breve análisis de los mismos.

2.1. CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS

Propiedades organolépticas: color, olor, sabor

El color es generalmente una propiedad inherente a la estructura química de la molécula, relacionada con cierto nivel de insaturación, así como con la presencia de cromóforos tales como grupos $-NH_2$, $-NO_2$ y $-CO-$. Algunos compuestos pueden presentar cierta coloración a pesar de ser compuestos saturados, debiéndose a menudo este fenómeno a la presencia de impurezas y/o productos de degradación. Una variación significativa de color en sustancias sometidas a condiciones extremas: calor, oxígeno y luz, puede ser un factor limitante en la estabilidad del producto, sobre todo cuando se formula como inyectable, aun cuando no se hayan apreciado cambios en la estabilidad química.

El olor también es una propiedad inherente a los grupos funcionales presentes en la molécula. Puede darse el caso de una sustancia inodora y que, sin embargo, en algún lote presente un olor debido a disolventes residuales, siendo necesario entonces el determinar si ha sido adecuadamente secada.

Punto de fusión:⁽¹⁶⁾

La determinación del punto de fusión es la primera indicación de pureza, ya que la presencia de cantidades relativamente pequeñas de impurezas se detectan por una disminución del valor, así como por un ensanchamiento del rango para esta constante.

Forma, tamaño de partícula y superficie específica:

El estudio del tamaño de partícula no es importante para principios activos solubles en agua, a no ser que se presenten en forma de agregados de gran tamaño e interese aumentar la velocidad de disolución para reducir los tiempos de fabricación, en el caso de la preparación de disoluciones. Sin embargo, sí es una propiedad fundamental, junto con la forma y la superficie específica, en la preparación de formas sólidas, por su relación con parámetros como la fluidez, la homogeneidad y estabilidad de las mezclas, la uniformidad de peso y contenido de los comprimidos terminados, así como por su relación con la biodisponibilidad en el caso de sustancias de muy baja solubilidad en agua.

Propiedades cristalinas y polimorfismo:⁽¹⁶⁾

Muchas sustancias pueden existir en más de una forma cristalina con diferente estructura interna. Esta propiedad se denomina polimorfismo. Puede darse el caso de sólidos que cristalizan atrapando moléculas de disolvente en lugares específicos de la red espacial y con una estequiometría fija, originando los solvatos o pseudopolimorfos. Las formas amorfas se producen cuando un soluto precipita en una disolución, de manera que las moléculas del sólido resultante no están ordenadas de forma regular, sino con una distribución al azar.

Las formas cristalinas y los amorfos presentan una diferencia en su contenido energético, siendo generalmente las formas amorfas las que poseen una mayor energía termodinámica, por lo que su solubilidad y velocidad de disolución suelen ser mayores, pero, por la misma razón, también son más inestables. Existe, por lo tanto, una estrecha relación entre polimorfismo y biodisponibilidad (a través de la solubilidad), polimorfismo y estabilidad física y química, así como de polimorfismo con los procesos de compresión, ya que las diferentes formas polimórficas de un mismo sólido pueden diferir en propie-

dades físicas como la densidad real, forma de los cristales, compresibilidad y propiedades de flujo.

Constante de ionización:

La solubilidad en función del pH de un principio activo ácido o básico está íntimamente relacionada con el valor del pKa, de modo que la solubilidad de los ácidos débiles se incrementa a pH altos, mientras que la de las bases débiles disminuye. Se podría esperar una mayor absorción de los principios activos débilmente ácidos, administrados por vía oral, en aquellos segmentos del tracto gastrointestinal donde el valor del pH fuese más ácido, puesto que la absorción está relacionada con la fracción de la molécula que se encuentra en disolución sin ionizar (más liposoluble). Los principios activos de carácter básico, por el contrario, serían absorbidos preferentemente en las zonas más alcalinas del intestino. No obstante, no siempre se cumple esta relación, puesto que hay otros factores importantes que también han de ser considerados, como son la liposolubilidad de la sustancia y la fisiología del tracto gastrointestinal, ya que el intestino posee un área superficial muy superior a la del estómago.

Coeficiente de reparto: ⁽¹⁷⁻¹⁸⁾

El coeficiente de reparto P , es una medida de la lipofilia de una sustancia. Al ser las membranas biológicas de naturaleza lipídica, resulta de gran importancia el conocimiento de dicha constante para predecir la absorción de aquellos principios activos que poseen un mecanismo de difusión pasiva. No obstante, la correlación del coeficiente de reparto con la absorción no siempre se cumple, ya que los lípidos que forman parte de la composición de las membranas biológicas son muy complejos como para ser simulados por un solvente orgánico, y que el proceso de absorción es más complejo que el simple modelo usado en el laboratorio.

En el caso de las emulsiones parenterales, los valores de coeficiente de reparto proporcionan una idea indicativa de la duración de la actividad, de modo que si el coeficiente de reparto es alto, se observará un depósito del principio activo disuelto en la fase oleosa. Asimismo, existe una clara relación entre el coeficiente de reparto y la estabilidad del fármaco en emulsiones. El conocimiento de los coeficientes de reparto también es útil en los estudios analíticos (separaciones requeridas

para los ensayos a efectuar sobre el fármaco). Por último, y entre muchas otras aplicaciones que se podrían citar, el coeficiente de reparto está relacionado con el paso a través de membranas poliméricas, por lo que es uno de los parámetros importantes a considerar en los estudios de procesos de microencapsulación.

Higroscopicidad: ⁽¹⁹⁻²²⁾

Un sólido es higroscópico si modifica su contenido en agua bajo condiciones específicas. Es importante determinar el comportamiento frente a la humedad de toda sustancia medicamentosa, ya que este factor es una de las causas más frecuentes de alteración de medicamentos, especialmente en formas sólidas. Así por ejemplo, en polvos, granulados o comprimidos, una humedad superior al 4 % puede permitir el desarrollo de algunos microorganismos. A su vez, la humedad constituye uno de los problemas más importantes para la conservación de formas farmacéuticas sólidas, sobre todo cuando se combina con una temperatura elevada, como ocurre en determinados países tropicales, pudiendo afectar tanto a las características físicas como químicas del medicamento. En las formas de dosificación sólidas, la humedad puede tener un efecto significativo

sobre la cinética de degradación. Si un principio activo es muy higroscópico o se llega a la conclusión de que es inestable en presencia de humedad, ha de ser almacenado en condiciones anhidras y se ha de trabajar con él en ambiente de baja humedad.

Solubilidad: ⁽²³⁻³⁰⁾

La determinación de la solubilidad, tanto en medio acuoso en función del pH, como en distintos cosolventes y disolventes, es imprescindible cuando se planifica un estudio de preformulación para un posterior desarrollo de formas farmacéuticas que van a ser administradas por vía parenteral, así como por vía oral.

En el primer caso, porque permitirá elegir el disolvente más adecuado para su vehiculación. En el segundo caso, porque para que se produzca la absorción tras la administración oral, salvo casos excepcionales, es necesaria la disolución previa del principio activo en los fluidos gastrointestinales.

Existen numerosos recursos para aumentar la solubilidad en agua de un principio activo insoluble, entre los que cabe destacar la formación de sales, el empleo de

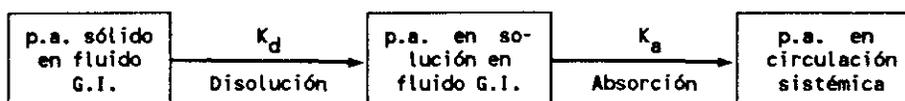
cosolventes que cambien la constante dieléctrica del medio, la formación de complejos, el empleo de profármacos y la utilización de polimorfos y pseudomorfos.

Desde un punto de vista tecnológico, es importante conocer la solubilidad en distintos disolventes de uso común en los procesos de fabricación de formas sólidas: preparación de granulados, etapa de recubrimiento, etc.

También es importante, desde el punto de vista analítico, tanto para la identificación del principio activo como para el estudio de la velocidad de disolución en aquellos casos de sustancias de solubilidad tan baja que para trabajar en condiciones "sink" requieren el uso de cosolventes o tensoactivos en el medio de disolución ya que, en caso contrario, las cantidades disueltas son difícilmente detectables por métodos analíticos convencionales.

Velocidad de disolución:^(9,10,13,31)

La absorción de un principio activo administrado oralmente sigue en la mayoría de los casos el siguiente esquema:



donde K_d y K_a son las constantes de velocidad de los procesos de disolución y absorción. Cuando la velocidad de disolución es significativamente más baja que la de absorción, es aquella la que limita el proceso. Esta situación es previsible para sustancias moderada o escasamente hidrosolubles (coeficiente de solubilidad inferior al 0,3 % p/v en el lugar de absorción).

Los factores que afectan a la velocidad de disolución son la superficie de la sustancia en contacto con el medio de disolución, que a su vez está relacionada con el tamaño de partícula, y la solubilidad del principio activo en el medio de disolución.

Densidad, porosidad, compresibilidad, fluidez y cohesión:⁽³²⁾

Todos estos parámetros están interrelacionados y su conocimiento es imprescindible cuando se plantea un desarrollo para el estudio de formulación de formas sólidas.

El estudio de la densidad, definida como masa por unidad de volumen, es importante en todos aquellos casos en que se plantea un desarrollo de preformulación de un principio activo, por su estrecha relación con los problemas de manipulación y almacenaje durante el proceso de síntesis, así como con todos los problemas que puedan surgir durante la evolución de los procesos tecnológicos necesarios para preparar la forma farmacéutica final, sobre todo, cuando ésta es la forma de polvos o granulados para solución o suspensión extemporánea o bien la de cápsulas o comprimidos, ya que en estos casos se requieren procesos previos de mezcla durante los cuales se puede ver favorecida la segregación, si no se han tenido en cuenta las densidades de los sólidos que componen dicha mezcla: principios activos y excipientes o coadyuvantes.

La porosidad es inversamente proporcional a la densidad, y a su vez la densidad de los sólidos también afecta a sus propiedades de flujo, de forma que, cuanto más denso es un material, más fácilmente es distribuido por la matriz de la máquina de comprimir.

La capacidad de un sólido pulverulento para formar una masa compacta bajo presión depende de sus características de compresibilidad. Se define la cohesión como la tendencia de las partículas de un material a unirse entre sí y depende fundamentalmente de su tamaño y del contenido en humedad.

Tanto la compresibilidad como la cohesión están inversamente relacionadas con la fluidez, siendo necesario, para la formulación de formas sólidas, encontrar la situación de equilibrio entre estos parámetros por medio de la adición de los adecuados excipientes.

2.2. CARACTERISTICAS DE ESTABILIDAD^(10,19,21)

Según las normas de buena fabricación (GMP), en todo medicamento que vaya a ser comercializado se debe indicar un período de validez, que esté justificado por los datos obtenidos en los estudios de estabilidad. Es, por lo tanto, necesario introducir en el programa de preformulación los estudios correspondientes, que nos permitan establecer las principales causas de alteración del principio activo, con el fin de poder determinar las

condiciones óptimas de su almacenamiento, así como el de los productos intermedios y de las formas farmacéuticas finales, y las precauciones a tomar en las etapas de fabricación de las mismas.

Cualquier medicamento debe cumplir los criterios de estabilidad químicos, físicos, terapéuticos y toxicológicos.

Desde el punto de vista químico, una degradación significativa del principio activo supone una disminución de la cantidad del mismo declarada en la forma farmacéutica, pudiendo no alcanzarse niveles terapéuticos. Por otra parte, aunque no se observe una degradación química significativa, sí pueden aparecer productos tóxicos formados en el proceso de descomposición. Por último, también pueden apreciarse cambios físicos en las formas farmacéuticas que influyan negativamente sobre su aspecto y sobre su biodisponibilidad.

En la fase de preformulación, los estudios de estabilidad del principio activo se realizan sobre la sustancia en estado sólido y en disolución.

Los estudios en estado sólido requieren largos períodos de tiempo, ya que las reacciones de degradación suelen ser lentas, por lo que es conveniente recurrir a programas acelerados en presencia de factores como elevada temperatura, humedad y luz.

La estabilidad en disolución es importante por su relación con la biodisponibilidad (estabilidad en función del pH) de las formas de administración oral, así como con la toxicidad por la posible aparición de productos de degradación en las soluciones inyectables. También es importante conocer la estabilidad en disolventes que puedan ser empleados en los procesos de fabricación, tales como disolventes de granulación o disolventes para recubrimiento.

Uno de los objetivos del estudio de preformulación es la identificación, en un tiempo relativamente corto, de excipientes compatibles con el principio activo con los que se puedan obtener formulaciones estables^(10,12).

Para una determinada forma farmacéutica se seleccionan los excipientes de uso más habitual y se preparan mezclas binarias principio activo-excipiente, que se

someten generalmente a estudios acelerados por condiciones forzadas de humedad y temperatura.

Se han descrito diseños estadísticos⁽¹²⁾ para la evaluación simultánea de varios excipientes y condiciones, como son el de Plackett-Burman o el Diseño Factorial 2 x 3, que presentan las siguientes ventajas: aumento de eficacia, evaluación de las variables a dos niveles y en presencia de otras variables y menor número de pruebas necesarias que en el método convencional.

3. RESUMEN DE LOS DATOS OBTENIDOS HASTA EL MOMENTO EN EL DESARROLLO DEL PROGRAMA GENERAL PARA EL ESTUDIO DEL LOBUPROFENO

El Lobuprofeno es un producto de síntesis de Laboratorios Juste, S.A.Q.F., nacido a partir de la selección de una serie de sustancias dotadas de propiedades analgésicas, periféricas y centrales, con un nivel toxicológico relativo que le dota de una buena tolerancia.

En la molécula de Lobuprofeno destacan dos estructuras perfectamente definidas, unidas entre sí por un enlace éster: por una parte el 2-(4-isobutilfenil)-propiónico (Ibuprofeno), dotado de propiedad analgésica periférica, y por otra, el 2-[N-(3-clorofenil)piperazinil]etilo (Cloroalcanol), emparentada químicamente con el metabolito activo de la Trazodona, que confiere al producto acción agonista serotoninérgica central. De ambas acciones puede explicarse el espectro de actividad analgésica central y periférica del que está dotado el Lobuprofeno.

3.1. CLASE TERAPEUTICA

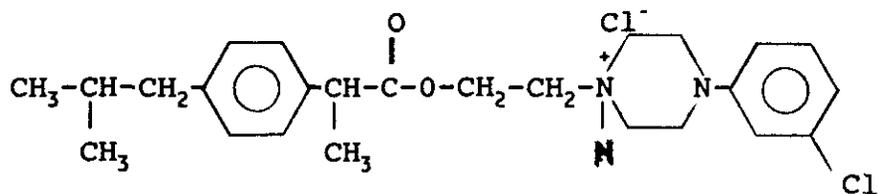
Analgésico.

3.2. NOMBRE QUIMICO, ESTRUCTURA Y PESO MOLECULAR

Clorhidrato de 2-(4-isobutilfenil)propionato de 2-[N-(3-clorofenil)piperazinil]etilo.

Fórmula empírica: $C_{25}H_{34}Cl_2N_2O_2$

Fórmula desarrollada:



Peso molecular: 465.

3.3. CARACTERIZACION

Microanálisis:

	C	H	N	Cl
% Calculado	64,61	7,31	6,02	15,28
% Hallado	64,27	7,46	6,00	14,95

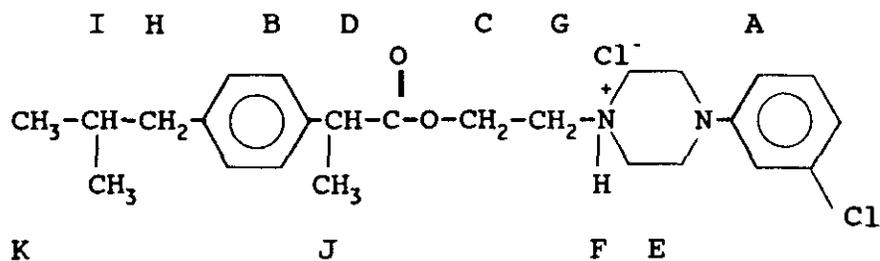
Espectro I.R.: Determinado en Nujol, presenta las siguientes bandas características:

2360 cm^{-1} :	$\begin{array}{c} + \\ -\text{N}-\text{H} \\ \\ \text{O} \\ \\ -\text{C}-\text{O} \end{array}$
1730 cm^{-1} :	-C=O
1600,1400 cm^{-1} :	aromático
850 cm^{-1} :	para sustitución

Espectro U.V.: Presenta los máximos siguientes:

$\lambda_{\text{máx}}$ (metanol): 289, 250 nm.

Espectro RMN: Determinado utilizando CDCl_3 como disolvente y TMS como señal interna, presenta las siguientes bandas características:



<u>S</u>	<u>Multiplicidad</u>	<u>Integral</u>	<u>J</u>	<u>Asignación</u>
7,4-6,5	Señal compleja	8	-	A+B
4,6	Triplete distorsionado	2	-	C
3,72	Cuadruplete	1	7H ₇	D
3,6-2,6	Señal compleja	10	-	E+F+G
2,42	Doblete	2	7H ₇	H
1,8	Multiplete	1	6H ₇	I
1,47	Doblete	3	7H ₇	J
0,83	Doblete	6	6H ₇	K

Rotación óptica: No presenta.

3.4. DATOS FISICO-QUIMICOS DISPONIBLES

Caracteres organolépticos: Sólido cristalino blanco, sin olor apreciable.

Punto de fusión: El producto, secado a vacío a 0,5 mm Hg, funde a 165-167 °C, determinado en capilar abierto en un aparato Büchi.

Solubilidad: Insoluble en agua, muy soluble en cloroformo y metanol, insoluble en éter y benceno.

3.5. ACCION FARMACOLOGICA

El estudio del Lobuprofeno empleando un test multidimensional (test de Irwin) permite adjudicarle el siguiente espectro de actividad farmacológica: analgésico, sedante, relajante muscular y antiagresivo.

La actividad analgésica del Lobuprofeno⁽³³⁾ se ha puesto de manifiesto frente a estímulos nociceptivos que exploran mecanismos periféricos y centrales de nocicepción: actividad analgésica tras administración intraperitoneal de bromuro de acetil colina, fenilbenzoquinona y ácido acético en ratón y frente a contorsiones inducidas por aire en rata; "Hot Plate" (test de la placa caliente) y test de estimulación eléctrica de la cola de la rata. Estos estudios se han desarrollado a título comparativo con otros analgésicos, en especial frente a Ibuprofeno y a Metamizol magnésico, encontrándose que el Lobuprofeno ejerce su actividad antinociceptiva, tanto a nivel periférico como central, siendo precisamente esta acción

central la que marca diferencias con los productos de referencia estudiados. En lo que se refiere al mecanismo de esta acción analgésica, los estudios realizados sobre la influencia de la Naloxona y de una serie de neuromodificadores aminérgicos, permiten descartar una participación de mecanismos opiáceos o aminérgicos en la actividad periférica del Lobuprofeno; sin embargo, los resultados obtenidos en los estudios sobre la posible implicación opiácea y aminérgica en la actividad analgésica central del Lobuprofeno, determinada mediante el "Hot Plate", muestran un comportamiento del producto sensiblemente diferente al observado cuando se estudia la actividad analgésica periférica. La administración previa de Metisergida antagoniza de forma parcial, pero estadísticamente significativa, el efecto analgésico del Lobuprofeno, indicando una posible participación de mecanismos serotoninérgicos postsinápticos en el efecto que nos ocupa⁽³⁴⁾. El estudio de unión a ligandos específicos nos permite precisar el perfil del mecanismo de acción del Lobuprofeno. Este producto carece de afinidad por receptores opiáceos (μ , δ y κ), así como sobre diversos receptores serotoninérgicos ($5HT_{1A}$; $5HT_{1B}$; $5HT_2$), adrenérgicos (α_1 ; α_2 ; β) y colinérgicos. Sin embargo, uno de sus metaboli-

tos, la m-clorofenilpiperazina, es capaz de fijarse sobre el receptor $5HT_{1B}$, hecho que parece contribuir a su efecto analgésico central.

En lo que se refiere a la acción sedante, detectada en el test de Irwin, se ha podido comprobar que el Lobuprofeno disminuye la actividad motora espontánea en el test del campo abierto, y se detecta un cierto nivel de relajación muscular y de incoordinación en el test del "Rota Rod", siendo ambos efectos independientes de la dosis.

Las propiedades sedantes del Lobuprofeno se ponen de manifiesto por su capacidad de potenciar el sueño inducido por barbitúricos.

El Lobuprofeno carece de actividad pro o anticonvulsivante (convulsiones producidas por electroshock).

En lo que se refiere a acciones cardiovasculares, no modifica la tensión arterial, determinada por método incruento en la cola del perro y de la rata. De igual manera, no provoca modificaciones electrocardiográficas en la rata que denoten trastornos del funcionalismo cardíaco inducidas por el producto.

La temperatura rectal del conejo no se modificó de forma basal por la administración de Lobuprofeno.

Por lo que respecta a la actividad antiinflamatoria, el Lobuprofeno exhibe una débil acción frente al edema plantar inducido por carragenina. Comparativamente, este efecto es sensiblemente inferior que el obtenido con dosis equimoleculares de Ibuprofeno.

3.6. TOXICIDAD Y TOLERANCIA GASTRICA

Toxicidad aguda en rata y ratón:

La DL_{50} se determina según el método de Litchfield y Wilcoxon, obteniéndose un valor de 3350 mg/kg en rata y 1929 mg/kg en ratón, en ambos casos por vía oral.

Toxicidad aguda en perro:

El fármaco presenta una toxicidad baja, no provocándose la muerte ni a dosis tan altas como 2400 mg/kg administradas por vía oral.

Toxicidad a dosis múltiples durante un mes en la rata:

El Lobuprofeno presenta baja toxicidad, ya que la administración en ratas repetida durante un mes a dosis muy altas no ha provocado importantes alteraciones funcionales. Se observa una estrecha relación dosis-efecto, presentando su patología a la dosis más alta (400 mg/kg/día), incidiendo principalmente sobre los siguientes sistemas y órganos:

1- Sistema gastrointestinal: En el tubo digestivo se producen descamaciones de la mucosa en diversos grados, con exudados inflamatorios en función de la dosis.

2- Hígado: Se aprecian alteraciones que van desde la simple degeneración grasa hasta la necrosis focal con infiltrados inflamatorios.

3- Riñón: Las lesiones son descamativas y por tanto reversibles.

Toxicidad a dosis múltiples durante 6 meses en ratas:

Se ha observado una toxicidad muy baja. Sólo el grupo tratado con 400 mg/kg/día manifestó lesiones reversibles

centradas en el denominado eje hepato-renal, así como alteraciones del comportamiento, especialmente sedación.

Toxicidad a dosis múltiples durante 6 meses en perros:

La tolerancia general hasta la dosis de 65 mg/kg fue muy buena. A dosis superiores se obtuvieron hallazgos hematológicos, bioquímicos y anatomopatológicos, que son indicativos de la presencia de un cuadro anémico de origen digestivo y renal.

Mutagénesis (test de Ames):

El Lobuprofeno no presenta actividad mutagénica.

Teratogenia (estudios en rata y conejo):

Los estudios realizados empleando el ácido acetilsalicílico (AAS) como control positivo, indican que el Lobuprofeno exhibe poder teratogéno experimental a la dosis de 400 mg/kg. En este sentido, se observa un desarrollo ponderal mermado con respecto a los controles, con un diámetro medio cefálico similar al obtenido con AAS. De igual modo, aparecen alteraciones viscerales a la

dosis de 400 mg/kg/día. Las reabsorciones son menores que con AAS y las alteraciones osteoarticulares aparecen a las dosis elevadas de forma similar a las observadas con AAS.

De todos los estudios realizados se deduce que el perfil toxicológico del Lobuprofeno es similar al de otros analgésicos, especialmente al del Ibuprofeno, si bien las alteraciones tóxicas aparecen en menor grado y frecuencia, y a dosis muy superiores a las que aparecen con Ibuprofeno

Tolerancia gástrica:

Otro dato de máxima trascendencia en el estudio de un nuevo analgésico, es su capacidad de producir lesiones gastrointestinales. En este sentido, la actividad ulcerogénica del Lobuprofeno, estudiada en la rata comparativamente con Ibuprofeno y empleando como control positivo a la Indometacina, demuestra una menor lesividad gástrica del Lobuprofeno, debida a una mayor secreción de moco, factor protector, junto con una menor secreción clorhídrica, factor agresivo⁽³⁵⁾.

3.7. ESTUDIO FARMACOCINETICO

El Lobuprofeno, al igual que otros analgésicos tipo éster, se hidroliza "in vivo" dando lugar a los metabolitos primarios, ácido (Ibuprofeno: ácido 2-(4-isobutilfenil) propiónico) y alcohólico (Cloroalcanol: 2-[N-(3-clorofenil)piperazinil]etanol, por ello, se ha estudiado simultáneamente la farmacocinética de los dos productos resultantes de la hidrólisis, después de la administración intravenosa y oral en ratas de una dosis única de 13 mg/kg de (³H/¹⁴C)-Lobuprofeno.

Los datos de concentración plasmática/tiempo de los productos de hidrólisis durante el rango de tiempo estudiado (0-168 h) se ajustan a un modelo bicompartimental abierto. En el caso de la administración intravenosa, las ecuaciones que mejor representan la evolución temporal de los niveles plasmáticos son:

$$^3\text{H-Ibuprofeno: } C = 13,36 \times e^{-0,24t} + 0,74 \times e^{-0,0108t}$$

$$^{14}\text{C-Cloroalcanol: } C = 1,81 \times e^{-0,40t} + 0,64 \times e^{-0,0204t}$$

Los parámetros farmacocinéticos de ³H-Ibuprofeno y ¹⁴C-Cloroalcanol obtenidos a partir de los datos de concen-

tración plasmática/tiempo tras la administración intravenosa y oral de ($^3\text{H}/^{14}\text{C}$)-Lobuprofeno se dan en la tabla I.

La distribución es un proceso más rápido que la eliminación ($K_{12}/K_{10} > 1$) para ambos metabolitos. Por otra parte, está favorecida la distribución hacia el compartimento periférico, ya que $K_{12} > K_{21}$ y además $V_p > V_c$ para ambas vías de administración.

Los valores de la constante de disposición lenta (β) y del aclaramiento (Cl) muestran que la eliminación es un proceso relativamente lento para ambos productos.

Las biodisponibilidades de ambos metabolitos tras la administración oral de ($^3\text{H}/^{14}\text{C}$)-Lobuprofeno son: F (^3H -Ibuprofeno) = 0.91 y F (^{14}C -Cloroalcanol) = 0.64 y el $t_{\text{máx}}$ se alcanza entre 1-2 horas.

Para ambas rutas de administración, el ^3H -Ibuprofeno se excreta fundamentalmente en la orina (57-65 %), mientras que sólo una pequeña fracción de ^{14}C -Cloroalcanol (21-33 %) se excreta por esta vía.

Los parámetros farmacocinéticos de la excreción urinaria, calculados a partir de los valores de porcentaje de dosis que queda por excretar/tiempo, se dan en la

tabla II. El proceso de excreción urinaria puede describirse mediante una ecuación biexponencial, ya que se caracteriza por una primera fase de eliminación muy rápida (0-24 h) y una segunda fase muy lenta (24-168 h).

En contraste con la excreción urinaria, el ^{14}C -Cloroalcanol se excreta principalmente en las heces (35-45 %), mientras que una fracción muy pequeña de ^3H -Ibuprofeno se elimina por esta ruta.

Parámetros farmacocinéticos	I.V.		Oral	
	³ H-Ibuprofeno	¹⁴ C-Cloroalcanol	³ H-Ibuprofeno	¹⁴ C-Cloroalcanol
A ₁ (μg/ml)	13,36	1,81	20,38	0,91
A ₂ (μg/ml)	0,75	0,64	0,83	0,26
A ₃ (μg/ml)	--	--	21,22	1,17
Dosis (mg)	1,18	1,60	1,13	1,52
α (h ⁻¹)	0,24	0,40	0,46	0,40
β (h ⁻¹)	0,0108	0,0204	0,0106	0,0130
K _a (h ⁻¹)	--	--	1,88	2,08
V _c (l)	0,0836	0,6531	0,0484	0,8314
V _p (l)	0,4186	1,2704	0,4635	2,1960
V _{ss} (l)	0,5022	1,9235	0,5119	3,0274
K ₁₂ (h ⁻¹)	0,1150	0,2326	0,2694	0,2615
K ₂₁ (h ⁻¹)	0,0230	0,1196	0,0282	0,0990
K ₁₀ (h ⁻¹)	0,1138	0,0682	0,1730	0,0525
AUC (mg x l ⁻¹ x h)	125,10	35,90	113,32	22,72
Cl (l/h)	0,0095	0,0446	0,0084	0,0437
K ₁₂ /K ₂₁	5,01	1,94	9,56	2,64
K ₁₂ /K ₁₀	1,02	3,41	1,56	4,98
K ₂₁ /K ₁₀	0,20	1,75	0,16	1,88
C _{máx} (μg/ml)	--	--	16,64	1,06
T _{máx} (h)	--	--	1,40	1,81
F	--	--	0,91	0,64

Tabla I. Parámetros farmacocinéticos de ³H-Ibuprofeno y ¹⁴C-Cloroalcanol tras la administración intravenosa y oral de (³H/¹⁴C)-Ibuprofeno en rata.

Parámetros	I.V.		Oral	
	³ H-Ibuprofeno	¹⁴ C-Cloroalcanol	³ H-Ibuprofeno	¹⁴ C-Cloroalcanol
U_1	78,98	22,48	82,94	39,64
U_2	14,28	5,89	16,18	3,87
$K_{u1} (h^{-1})$	0,17	0,18	0,12	0,13
$K_{u2} (h^{-1})$	0,0226	0,0267	0,0221	0,0220

Tabla II. Parámetros farmacocinéticos de excreción urinaria de ³H-Ibuprofeno y ¹⁴C-Cloroalcanol tras la administración intravenosa y oral de (³H/¹⁴C)-Ibuprofeno en ratas.

II. - OBJETIVO Y PLANTEAMIENTO

El objetivo de la presente memoria es llevar a cabo el desarrollo de un programa de preformulación orientado hacia la obtención de comprimidos y soluciones inyectables de una nueva molécula con actividad analgésica, el Lobuprofeno. Con los resultados de este estudio, junto con todos los datos farmacotoxicológicos y farmacocinéticos obtenidos en el desarrollo preclínico se podrá decidir acerca de la viabilidad de las formas farmacéuticas propuestas. Asimismo, constituirán la base para el planteamiento de la fase de formulación en la que se seleccionarán las formas de dosificación más adecuadas para llevar a cabo los estudios clínicos planteados en el programa general de desarrollo de dicha molécula.

Para cubrir este objetivo se propone el siguiente planteamiento experimental:

PUESTA A PUNTO DE LA METODOLOGIA ANALITICA

- Estudio de la absorptividad, absorptividad molar y $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ para el Lobuprofeno y los productos resultantes de su hidrólisis
- Estudio analítico cualitativo
 - Cromatografía en capa fina
 - Cromatografía de líquidos de alta resolución

- Análisis cuantitativo. Validación de los métodos de espectrofotometría UV y cromatografía de líquidos de alta resolución

PREFORMULACION

- Características físicas y físico-químicas que pueden afectar al desarrollo de la forma farmacéutica
 - De interés general:
 - Forma, tamaño de partícula y superficie específica
 - Solubilidad
 - Velocidad de disolución
 - Polimorfismo
 - Constante de ionización
 - Coefficiente de reparto
 - Higroscopicidad
 - De interés para un planteamiento de formas sólidas:
 - Densidad, porosidad e índice de Carr de compresibilidad
 - Propiedades de flujo

- Características de estabilidad
 - Como materia prima
 - en disolución
 - al estado sólido
 - En mezcla con excipientes

Los métodos, resultados y comentarios correspondientes a cada una de las determinaciones, se especifican individualmente, dada la heterogeneidad de las mismas.

III . - DESARROLLO EXPERIMENTAL

1. MATERIALES

1.1. SUSTANCIAS ACTIVAS, EXCIPIENTES, REACTIVOS Y DISOL-
VENTES

Sustancias activas:

- Lobuprofeno Lote M-1, 2ª cristalización (estándar)
(Juste S.A.Q.F.)
- Lobuprofeno Lote L-1 (Juste S.A.Q.F.)
- Ibuprofeno Lote LHG-73 (Chemo Iberica)
- 2-[N-(3 clorofenil) piperazinil] etanol; Lote 3 (Juste,
S.A.Q.F.); (Cloroalcanol).

Excipientes:

- Almidón de maíz (Cerestar Ibérica)
- Avicel pH-101 (FMC)
- Estearato de magnesio (Unión Deriván, S.A.)
- Fosfato bicálcico anhidro (BK Ladenburg)
- Gelatina (Deutsche Gelatine)
- Glicerinformal (S.P. Química)
- Goma arábiga (Meer Corporation)
- Kollidón K-25 (BASF)
- Kollidón K-30 (BASF)
- Lactosa monohidrato (Borculo Holanda)
- Laurilsulfato sódico (Henkel Ibérica)

- Polietilenglicol 6000 (Fluka)
- Talco (Sociedad Española de Talcos S.A. Leon)
- Tween 80 (Glyco)

Reactivos y disolventes:

- Acetato de etilo (p. cromat., Merck)
- Acetato sódico (p. anal., Merck)
- Acetona (p. cromat., Merck)
- Acetonitrilo (p. H.P.L.C.)
- Ácido acético glacial 100% (p. cromatografía, Merck);
(p. análisis, Merck)
- Ácido cítrico monohidrato (p.a. Fluka)
- Ácido clorhídrico (p. anal. 35%, Merck)
- Ácido sulfúrico concentrado 66° Be. (p. anal., Probus)
- Agua bidestilada y filtrada por 0.22 μm .
- Benceno (p. espectroscopia, Merck)
- Benzaldehido (p. anal., Fluka)
- n-Butanol (p. cromat., Merck)
- Cloroformo (p. anal., Panreac)
- Cloruro de metileno (puro, Fluka)
- Dioxano (puro, Fluka)
- Etanol (96% puro, Probus)
- Éter (p. anal., Probus)

- Fenantreno (puro, Fluka)
- Formaldehido 35-40% p/v (p. anal., Panreac)
- Fosfato monopotásico (puro, Fluka)
- Ftalimida (puris., Fluka)
- n-Hexano (puro, Fluka)
- Hidróxido amónico (p. anal., Fluka)
- Hidróxido potásico (p. anal., Probus)
- Hidróxido sódico (p. anal., Probus)
- Iodo (p. anal. Fluka)
- Isopropanol (q. puro, Probus)
- Metanol (p. cromat., Merck); (p. anal. merck); (p. H.P.L.C., Biolab); (según Karl-Fischer, para acuometría, Scharlau)
- Naftaleno (puro, M&B)
- Nitrato sódico (p. anal., Fluka)
- Nitrobenceno (puro, Fluka)
- n-Octanol (p. anal., Panreac)
- Pentóxido de fosforo (puris., Panreac)
- Reactivo Karl-Fischer exento de metanol:Hydranal-Composite 5 (Riedel-de Haën)
- Tetrahidrofurano (99.5%, Scharlau)
- Tolueno (p. anal. , Probus)

1.2. INSTRUMENTOS Y UTILLAJE

- Agitador-calefactor con termostato Agimatic-N de Selecta.
- Agitatus, Heidolph Reax 2000.
- Analizador automático para valoraciones potenciométricas y Karl-Fischer, Titroprocessor 682 Metrohm provisto de un dosificador Dosimat 665 y agitador magnético E-649.
- Analizador granulométrico Helos 12 k, marca Sympatec, provisto de sistema de alimentación de fase húmeda y de un software para tratamiento de datos, que puede operar en 3 formas diferentes:
 - * Sistema operativo (UCDS P-System).
 - * Sistema de medidas "Helos".
 - * Sistema de cálculos "QX".
- Aparato para determinación de densidades aparentes JEL STAV. 2003 con probeta de 100 ml.
- Aparato para determinación del punto de fusión, Büchi 510.
- Aparato para determinación de velocidad de disolución, Erweka. DT-6-L.
- Balanza de precisión, Mettler AT-250.

- Cámara climática Heraeus VTRKL150/S. Fluctuación máxima de temperatura: ± 0.5 °C; fluctuación máxima de humedad $\pm 4\%$ H.R.
- Cámaras de desarrollo para C.C.F.
- Cámaras (dos) de irradiación UV constituidas por una pantalla de 14 x 36 cm y con un tubo de 254 nm y 366 nm respectivamente, Camag de 8 vatios y que proporcionan 7 luxes a una distancia de 13 cm de la muestra.
- Cámara de irradiación de luz visible constituida por una pantalla de 51 x 54 cm en la que se situó una lámpara electrónica Osram, DULUX EL de 11 vatios, 220-235 V, 50/60 Hz con 2900 luxes, a una distancia de 13 cm de la muestra.
- Cámara de visualización para placas de C.C.F. provista de lámpara U.V. de 254 nm.
- Cilindro hueco de vidrio (para medidas de fluidez) de 7.4 cm de altura y 2.15 cm de diámetro interno.
- Centrífuga Sigma 202 M.
- Columna para H.P.L.C. (Fase reversa), Hypersil ODS, 5 μm (200 x 2.1 mm), Teknokroma.
- Columna para H.P.L.C. (Fase reversa), Microbondapak (Microbore C-18), 10 μm , (300 x 2 mm), Waters.
- Columna para H.P.L.C. (Fase reversa), Novapak C-18, 4 μm , (150 x 3.9 mm), Waters.

- Cromatógrafo de líquidos Hewlett-Packard, mod. HP 1090 provisto de sistema de detección HP 1090 A (DAD), inyector automático, horno para columnas, ordenador HP 85 B, unidad de disco HP 9121 e impresora HP Thinkjet.
- Cubetas de cuarzo para espectrofotometría de 1 cm de paso óptico.
- Desecadores Afora.
- Embudo de vidrio (para medidas de fluidez) de 26 cm de altura total, 14 cm de altura del vástago, 15 cm de diámetro de boca y 1.2 cm de diámetro del vástago.
- Espectrofotómetro UV-Visible Shimadzu UV-160.
- Estufas de aire forzado Heraeus UT6420"B". Fluctuación máxima de temperatura ± 0.5 °C.
- Estufa de calor seco Selecta Digitronic. Fluctuación máxima de temperatura ± 0.5 °C.
- Filtros de membrana Durapore (di-fluoruro de polivinilideno) tamaño de poro de $0.45 \mu\text{m}$.
- Luxómetro Delta OHM HD 8366.
- Microjeringa Hamilton de $10 \mu\text{l}$.
- Microscopio electrónico de barrido; JEOJ JSM-T330A.
- Microscopio óptico Nikon Labophot provisto de cámara fotográfica Nikon F-301 y filtro de polarización.
- Picnómetro para sólidos Afora.

- Placas para C.C.F. de silicagel 60 F254, (5 x 20 cm), 0.25 mm de espesor; Merck.
- Termohigrómetro digital 8564; Hanna Instruments.

2. PUESTA A PUNTO DE LA METODOLOGIA ANALITICA

Para poder realizar la mayoría de los ensayos que supone un estudio de preformulación, resulta imprescindible el conocimiento de la metodología analítica necesaria para la caracterización, tanto cualitativa como cuantitativa, de la molécula objeto del estudio, así como de aquellas sustancias, impurezas o productos de degradación que pudieran acompañarla. Por ser el Lobuprofeno un éster, se contempla la hidrólisis como posible vía de degradación, por lo que hay que considerar que, junto a la molécula inalterada, se pueden encontrar los dos productos resultantes de dicha hidrólisis: el Ibuprofeno y el 2-[N-(3-clorofenil)piperazinil]etanol, al que, para facilitar la lectura del texto, a partir de ahora denominaremos Cloroalcanol. Si bien cabe la posibilidad de que existan productos resultantes de otras reacciones de degradación, éstos no se han considerado en el presente estudio analítico.

Gran parte de las formas de caracterización surgen de la resultante de la interacción entre la radiación electromagnética y las moléculas o átomos de una sustancia química, siendo necesario, por lo tanto, el conocimiento de una de las constantes características de cada molécula: la absortividad. Por ello, en este estudio analítico se plantean los siguientes puntos:

- 1.- Estudio de la absortividad, absortividad molar y $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ para el Lobuprofeno y los productos resultantes de su hidrólisis.
- 2.- Estudio analítico cualitativo.
- 3.- Análisis cuantitativo, validación de los métodos de espectrofotometría UV y cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC).
- 4.- Resumen y descripción de los métodos seleccionados para el análisis del Lobuprofeno.

2.1.- ESTUDIO DE LA ABSORTIVIDAD, ABSORTIVIDAD MOLAR Y
 E_{1x}^{1cm} PARA EL LOBUPROFENO Y LOS PRODUCTOS RESULTANTES
DE SU HIDROLISIS

Como resultante de la interacción entre la radiación electromagnética y las moléculas o átomos de una sustancia química, surge la espectrofotometría de absorción. Las técnicas más frecuentemente empleadas en el análisis de productos farmacéuticos incluyen la espectroscopía de absorción atómica, ultravioleta, visible e infrarrojos⁽³⁶⁾. Las longitudes de onda empleadas en estas técnicas abarcan desde valores muy bajos para la región del ultravioleta (190 nm a 380 nm) y el visible (380 nm a 780 nm) hasta el infrarrojo próximo (780 nm a 3000 nm) y el infrarrojo lejano (2,5 μm a 40 μm).

Los espectros ultravioleta y visible de la mayoría de las sustancias, generalmente no presentan un alto grado de especificidad, no obstante, pueden ser empleados en análisis cuantitativo, siempre que se confirme que en las condiciones de trabajo no existen interferencias con otros compuestos presentes en el medio.

La intensidad de la radiación disminuye en función de la distancia que recorre a través del medio absorbente. También decrece en función de la concentración de moléculas o iones con capacidad de absorción que se encuentren en ese medio. Estos dos factores determinan la proporción de la energía total incidente que emerge. La disminución de la intensidad de radiación monocromática, al pasar a través de un medio absorbente homogéneo, se establece cuantitativamente por medio de la ley de Beer, cuya expresión matemática se define mediante la ecuación [1]

$$\log (1/T) = A = a \times b \times C \quad [1]$$

en donde:

T = transmitancia

A = absorbancia

a = absortividad

b = paso óptico (expresado en cm)

C = concentración de la sustancia activa (expresado en gramos por litro)

La absortividad, por tanto, se define como el cociente de la absorbancia dividida por el producto de la concentración de la sustancia, expresada en gramos por

litro y el paso óptico en centímetros (USP XXII). La absorptividad molar (ϵ) es el cociente de la absorbancia dividida por el producto de la concentración de la sustancia, expresada en moles por litro y el paso óptico en centímetros. Es también el producto de la absorptividad y el peso molecular de la sustancia. Se puede expresar como índice de absorbancia molar, coeficiente de extinción molar y coeficiente de absorción molar.

Si se desconoce el peso molecular de la sustancia en estudio se usa a menudo la expresión $E_{1\%}^{1\text{cm}}$, que está relacionada con la absorptividad por la ecuación [2]

$$E_{1\%}^{1\text{cm}} = a \times 10 \quad [2]$$

La ley de Beer no proporciona información acerca del efecto de la temperatura, longitud de onda o tipo de disolvente. Para la mayoría de los estudios analíticos, los efectos de variaciones de la temperatura, dentro de un rango normal, son poco importantes.

La absorptividad de una sustancia es una constante independiente de la intensidad de la radiación incidente, y la densidad óptica debe permanecer constante, siempre

que el producto de la concentración por el espesor de la cubeta lo sean; sin embargo, esto no siempre es verdad. A menudo, la absortividad molar varía apreciablemente con la concentración del soluto, pudiendo ser debidas estas desviaciones a alguna de las causas que se describen a continuación: asociación molecular del soluto a altas concentraciones, fenómenos de fluorescencia, asociaciones entre moléculas de soluto y de disolvente, procesos de disociación, ionización del soluto en el caso de ácidos, bases o sales, etc. Es importante, por lo tanto, estudiar la influencia del pH del medio.

En el presente trabajo se plantea el estudio de la absortividad, absortividad molar y el $E_{1\%}^{1\text{cm}}$, en dos medios distintos, correspondientes a su vez a los medios de disolución que se emplean respectivamente en los métodos espectrofotométrico y de cromatografía de líquidos de alta resolución (con detector espectrofotométrico), para el Lobuprofeno. Se estudian estas constantes, tanto para el Lobuprofeno como para los productos resultantes de su hidrólisis (posibles productos de degradación), como son el Ibuprofeno y el Cloroalcanol, con el fin de poder elegir la longitud de onda óptima para la puesta

a punto de la metodología analítica de la molécula en estudio.

2.1.1. METODO

2.1.1.1. Selección de la longitud de onda analítica

Se preparan dos muestras de Lobuprofeno con una concentración de 0,03 mg/ml en los correspondientes medios de disolución: como medio ácido se elige una disolución de ClH 0,1 N y como medio básico una mezcla de acetonitrilo/acetato sódico 0,01 M (95/5), y se obtienen los espectros de absorción característicos en todo el campo del ultravioleta. No se considera el visible por carecer el Lobuprofeno de cromóforos capaces de absorber en esa región del espectro.

En ambos casos las lecturas se efectúan frente a un blanco del mismo disolvente, empleando cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

A partir de los espectros de absorción se obtienen las longitudes de onda de máxima absorción, que serán las que se seleccionen para la continuación de este estudio.

2.1.1.2. Absortividad, absortividad molar y $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ del Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcanol

A partir de una disolución madre, con una concentración de 10 mg/ml en metanol, de cada una de las sustancias en estudio, y por medio de las adecuadas diluciones con el correspondiente medio de disolución, se preparan las soluciones de concentración indicada en la tabla III.

Empleando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico, se efectúan las lecturas de absorbancia a las longitudes de onda seleccionadas, frente a un blanco del disolvente utilizado para la preparación de las respectivas disoluciones.

A partir de los valores de absorbancia y concentración (en gramos por litro), se calcula la absortividad (a) y por medio del producto de la absortividad por los pesos moleculares de cada una de las sustancias se obtiene la absortividad molar (ϵ).

P_M Lobuprofeno	= 465,46
P_M Lobuprofeno base	= 429,00
P_M Ibuprofeno	= 206,28
P_M Cloroalcanol	= 240,73

Por medio de la ecuación [2] se obtiene el valor de $E_{1\%}^{1\text{cm}}$. En todos los casos se calcula la desviación estándar y el coeficiente de variación de los valores obtenidos.

2.1.2. RESULTADOS Y COMENTARIOS

La figura 1 representa los espectros de absorción del Lobuprofeno en los dos medios de disolución elegidos, ClH 0,1 N y acetonitrilo/acetato sódico 0,01 M (95/5). A partir de la tabla IV, en la que se recogen los valores de absorbancia correspondientes a dichos espectros, se obtienen las longitudes de onda de máxima absorción para el Lobuprofeno, que son para el medio ácido 210 y 246 nm, y para el medio básico 210 y 254 nm. Se observan valores distintos de longitudes de onda de máxima absorbancia en función del pH, lo cual puede ser debido a fenómenos de ionización, ya que al ser el pKa del Lobuprofeno igual a 4,53, como se demostrará más adelante, la molécula disuelta en ClH 0,1 N (pH = 1,24) se encuentra parcialmente ionizada, mientras que cuando se disuelve en acetonitrilo/acetato sódico 0,01 M (95/5) (pH = 8,4) se encuentra mayoritariamente en forma no ionizada.

En la tabla V se recogen los valores de absortividad, absortividad molar y $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ obtenidos para las tres moléculas estudiadas en los dos medios de distintos pH y a las longitudes de onda seleccionadas para este estudio.

Los coeficientes de variación (%) son en todos los casos inferiores al 5 %, correspondiendo el valor más alto de 4,73 % al estudio del Ibuprofeno en medio ácido y a 246 nm. Esto es debido a que, por causa de la baja solubilidad del Ibuprofeno en este medio, no ha sido posible preparar, tal y como se indica en la tabla III, una concentración superior a 0,1 g/l, por lo que los valores de absorbancia obtenidos han sido muy bajos (0,103-0,119 Aus), y en consecuencia, los errores en las lecturas son superiores a los obtenidos en el resto de las determinaciones.

A partir de la tabla V se deduce que, cuando el Lobuprofeno en disolución esté acompañado por productos derivados de su hidrólisis, se producirán interferencias en las valoraciones que se realicen por espectrofotometría, a las longitudes de onda de máxima absorción de la molécula en estudio. Por lo tanto, y como era de prever, el método espectrofotométrico es poco selectivo y sólo se podrá usar para cuantificar el Lobuprofeno en aquellos

casos en los que se tenga la seguridad, comprobada por cualquier otra técnica, de que en la disolución hay ausencia de sustancias con capacidad de absorción.

En cuanto al método de cromatografía de líquidos de alta resolución, se podrá emplear la detección espectrofotométrica a 254 nm, siempre que se demuestre la selectividad de dicho método cromatográfico por medio de la obtención de tiempos de retención lo suficientemente diferenciados para los picos de elución de los distintos componentes de la disolución. Al obtenerse valores muy similares para la absortividad molar del Lobuprofeno (14148) y Cloroalcanol (14242) en el medio de acetonitrilo/acetato sódico 0,01 M (95/5) y a 254 nm, podemos tener la seguridad de que será posible efectuar un seguimiento de los procesos de degradación que se produzcan a lo largo de los estudios de estabilidad, siempre que esta degradación se deba a la hidrólisis del Lobuprofeno, originándose de forma equimolecular Cloroalcanol e Ibuprofeno.

Por último, y dados los valores de absortividad obtenidos, la longitud de onda de 210 nm no presenta ninguna ventaja frente a las otras dos seleccionadas de 246 y 254 nm, por ello, y puesto que a valores bajos de la

región del ultravioleta absorben la mayoría de las sustancias, incluidos los disolventes, se desecha dicha longitud de onda para la realización de los estudios analíticos.

Medio de disolución Longitud de onda	LOBUPROFENO		IBUPROFENO		CLOROALCANOL	
	X	Y	X	Y	X	Y
210 nm	0,002-0,020	0,004-0,030	0,010-0,030	0,010-0,030	0,004-0,009	0,004-0,009
246 nm	0,020-0,040	-	0,100	-	0,005-0,009	-
254 nm	-	0,020-0,040	-	0,010-0,030	-	0,005-0,009

X = Acido clorhídrico 0,1 M

Y = Acetonitrilo/acetato sódico 0,01 M (95/5)

Tabla III. Rango de concentraciones (g/l) de trabajo para el estudio de la absorptividad del Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcanol.

X		Y	
λ (nm)	A (Aus)	λ (nm)	A (Aus)
350	-0,001	350	0,000
340	0,000	340	0,000
330	-0,001	330	0,000
320	0,002	320	0,032
310	0,014	310	0,079
300	0,047	300	0,117
290	0,074	290	0,119
280	0,075	280	0,127
270	0,087	270	0,432
260	0,274	260	0,928
250	0,570	250	0,732
240	0,573	240	0,370
230	0,604	230	0,506
220	1,036	220	1,378
210	1,982	210	1,930
200	0,794	200	1,724
$\lambda_{\text{máx}} = 246 \text{ nm}$ A (Aus) = 0,578		$\lambda_{\text{máx}} = 254 \text{ nm}$ A (Aus) = 0,943	

Tabla IV. Barrido efectuado en el UV para una muestra de Lobuprofeno en X: ClH 0,1 N e Y: Acetonitrilo/Acetato sódico 0,01 M (95/5), a una concentración de 0,03 mg/ml.

SUSTANCIA	LOBUPROFENO				IBUPROFENO				CLOROALCANOL			
	X		Y		X		Y		X		Y	
MEDIO DE DISOLUCION												
LONGITUD DE ONDA (nm)	210	246	210	254	210	246	210	254	210	246	210	254
a ($\text{Aus} \times \text{l} \times \text{g}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$)	71,88	20,39	73,37	32,98	34,80	1,10	39,08	0,98	113,67	31,98	97,62	59,16
n	11	12	18	11	9	9	10	10	12	10	12	10
s	2,0817	0,5213	2,0157	1,4665	1,5083	0,0521	0,3894	0,0200	1,0491	1,2230	0,3555	1,2431
CV (%)	2,89	2,55	2,75	4,44	4,33	4,73	0,99	2,04	0,92	3,82	0,36	2,10
ϵ ($\text{Aus} \times \text{l} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$)	33457	9491	31476	14148	7178	227	8061	202	27364	7698	23500	14242
$E_{1\%}^{1\text{cm}}$	719	204	734	330	348	11	391	10	114	320	98	59

X = Acido clorhídrico 0,1 M

Y = Acetonitrilo/acetato sódico 0,01 M (95/5)

Tabla V. Absortividad (a), absortividad molar (ϵ) y $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ para el Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcanol.

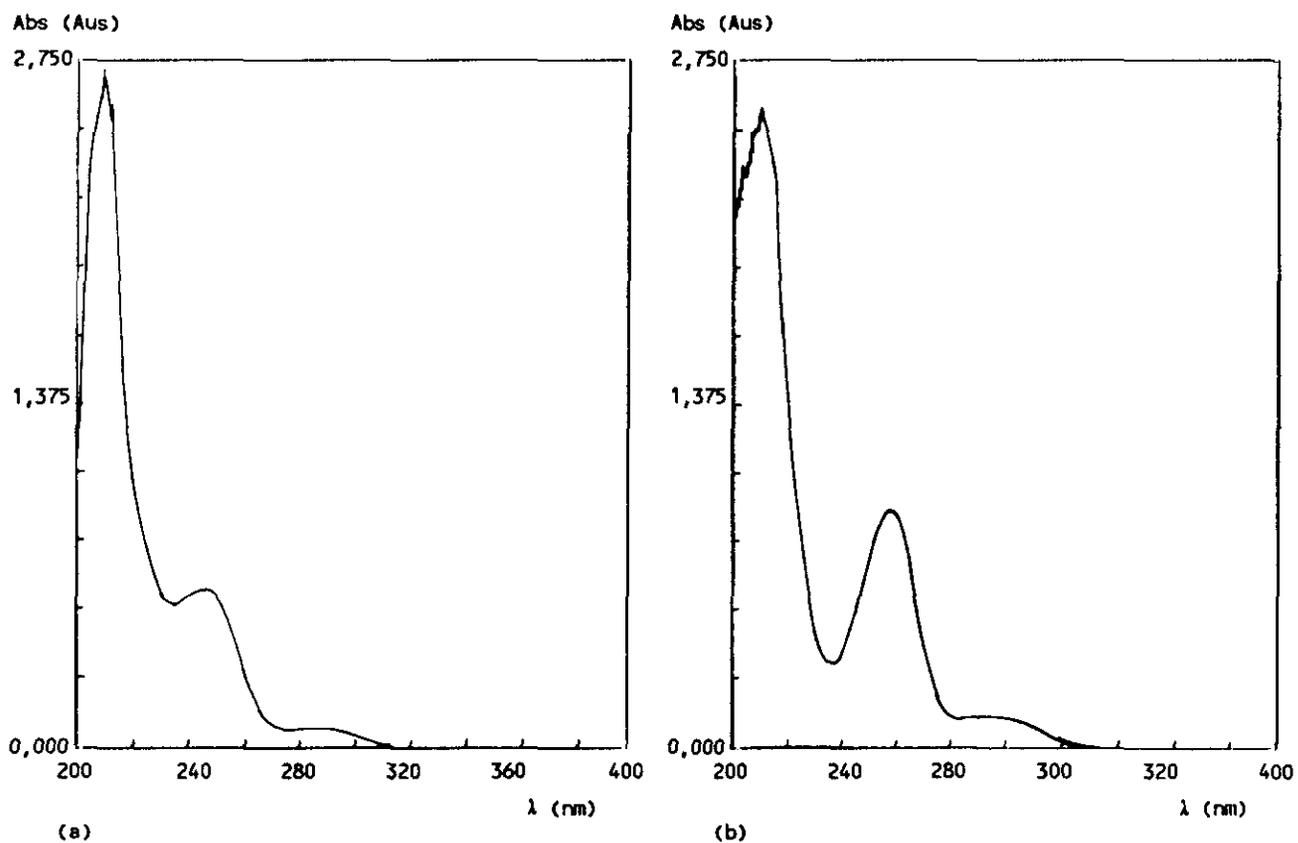


Figura 1. Espectros de absorción en UV de Lobuprofeno a una concentración de 0,03 mg/ml en a) ClH 0,1 N y b) Acetonitrilo/acetato sódico 0,01 M (95/5).

2.2.- ESTUDIO ANALITICO CUALITATIVO

2.2.1. Cromatografía en capa fina

Para el desarrollo del análisis cualitativo se elige, como punto de partida, la técnica de cromatografía en capa fina por sus conocidas propiedades de economía, sencillez, rapidez y especificidad⁽³⁷⁾, por lo que esta técnica resulta especialmente útil para una rápida identificación del producto en estudio, una vez obtenidos los valores de R_f con distintos eluyentes.

METODO

Eluyente: Los descritos en la tabla VI

Recorrido: Ascendente, 10 cm

Aplicaciones: Ibuprofeno: 10 μ l de una solución en cloroformo a una concentración de 20 mg/ml

Lobuprofeno: 5 μ l de una solución en cloroformo a una concentración de 2 mg/ml

Cloroalcanol: 5 μ l de una solución en cloroformo a una concentración de 2 mg/ml

Revelador: Método 1: Vapores de iodo.

Método 2: Radiación U.V. de $\lambda = 254$ nm.

Método 3: Rocíar las placas con una mezcla de 0,2 ml de formaldehído al 37 % y 10 ml de SO_4H_2 concentrado e introducir las posteriormente en estufa a 100 °C.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Reveladas las placas por cualquiera de los métodos indicados en el apartado anterior, se calculan los R_f , obteniéndose los resultados expresados en la tabla VI.

Al tratar de comprobar la influencia que ejerce el valor de la constante dieléctrica (ϵ) de los distintos eluyentes sobre los R_f obtenidos, se seleccionan los sistemas de elución que se recogen en la tabla VII, donde se incluyen también los valores de constante dieléctrica de las mezclas. Con el fin de evitar variaciones en los resultados por la influencia del pH, se han seleccionado los sistemas de elución de carácter ácido, de modo que se pueda suponer que la molécula de Lobuprofeno se encuentra en todos los casos en el mismo estado de ionización.

La representación gráfica de los valores de R_f en función de ϵ se muestra en la figura 2.

De los resultados obtenidos se observa una buena separación entre el Lobuprofeno y los posibles productos resultantes de su hidrólisis: Cloroalcanol e Ibuprofeno, a partir de valores de ϵ superiores a 20 con sistemas de elución de carácter ácido. No obstante, y con el fin de unificar los análisis, se elige como eluyente del Lobuprofeno la mezcla de n-butanol:ácido acético:agua en proporciones 9:1:3, con una constante dieléctrica de 30,44, teniendo en cuenta que sería posible emplear otros sistemas de elución igualmente con buenos resultados, tal y como se ha comentado anteriormente.

2.2.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC)

Al ser la cromatografía de líquidos de alta resolución una técnica que junto a las características de especificidad y sensibilidad permite la cuantificación de las muestras analizadas, se ha elegido esta metodología para completar el estudio analítico del Lobuprofeno.

Existen diferentes formas de racionalizar la selección de las condiciones cromatográficas a aplicar, tales

como las que se basan en alguna de las características del producto (por ejemplo, su solubilidad), debiendo también elegirse la fase móvil y el tipo de columna más conveniente a utilizar⁽³⁸⁾.

La molécula objeto del presente estudio es prácticamente insoluble en agua, presenta afinidad por disolventes de baja polaridad, como son el n-hexano y el cloroformo y se disuelve fácilmente en disolventes de polaridad intermedia, como son los alcoholes. Los compuestos que presentan estas características de solubilidad pueden ser cromatografiados, con buenos resultados normalmente, en fase reversa, por lo que es este sistema el que se ha empleado en el presente trabajo.

Cuando se utiliza una columna de fase reversa, la fase móvil ha de ser más polar que la fase estacionaria; suele emplearse, como fase móvil, agua en mezcla con disolventes orgánicos con el fin de modificar las características de elución de las muestras, de forma que los compuestos eluyan más rápidamente a medida que aumenta la proporción del disolvente orgánico.

En todos los ensayos se utiliza un cromatógrafo Hewlett Packard HP 1090 con detector UV(DAD), manteniendo algunas condiciones experimentales constantes.

Preparación de muestras: Disoluciones de Lobuprofeno, Ibuprofeno, Cloroalcanol y de la mezcla en la fase móvil (concentración de 1 mg/ml). Se filtran a través de un filtro de 0,22 μm de tamaño de poro.

Volumen de inyección: 3 μl .

Detección: UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

Los elementos variables son la columna y la naturaleza de la fase móvil, puesto que se pretende comprobar su influencia en el desarrollo cromatográfico, así como el flujo de la fase móvil, ajustándolo en cada caso al valor más adecuado para la calidad de los cromatogramas.

2.2.2.1. Estudio de la separación en función de la columna empleada

METODO

Se eligen columnas de fase reversa rellenas de gel de sílice recubierto de octadecilsilano (C_{18}), estableciendo como variables el tamaño de partícula y las dimensiones de

la columna, según se indica a continuación:

1. Hypersil ODS, 5 μm (200 x 2,1 mm) Teknokroma
2. Novapak C₁₈, 4 μm (150 x 3,9 mm) Waters
3. Microbondapak (Microbore C₁₈), 10 μm (300 x 2 mm)
Waters

Como fase móvil se emplea metanol, a un flujo de 0,5 ml/min.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los valores de tiempos de retención (en minutos) obtenidos para el Lobuprofeno y los dos posibles productos de su degradación por hidrólisis, Ibuprofeno y Cloroalcanol, se expresan en la tabla VIII.

Para comodidad y efectividad en el análisis, interesa que éste pueda ser realizado con rapidez; al ser los tiempos de retención obtenidos bajos en todos los casos, se puede predecir que sería posible usar cualquiera de las tres columnas; no obstante, será necesario realizar un estudio con distintas fases móviles con el fin de conseguir la separación del Lobuprofeno, del Ibuprofeno y del Cloroalcanol.

2.2.2.2. Estudio de la separación en función de la fase móvil empleada

En cromatografía de líquidos las características de retención de los componentes de la muestra para una columna dada, son dependientes de la composición química de la fase móvil⁽³⁸⁾.

Generalmente, los sistemas de disolvente para fase reversa son mezclas de agua-metanol y/o acetonitrilo. En algunas ocasiones se emplean soluciones reguladoras o sales neutras con el fin de controlar la retención del soluto⁽³⁹⁾. Como productos de degradación nos podemos encontrar al Ibuprofeno y derivados, así como derivados de los fenil-piperazinil alcanoles, productos más polares que el éster de partida, por ello se elige un eluyente de alta polaridad y débilmente básico (pH = 7,7-8,4), para que así se favorezca la no ionización de nuestro producto, consiguiendo una mejor separación cromatográfica.

Como parámetros de calidad del método se definen el factor de capacidad K' y la selectividad α ⁽⁴⁰⁾.

$$K' = (T_R - T_0) / T_0 \quad [3]$$

donde T_R y T_0 son los tiempos de retención de una muestra

retenida y otra no retenida, respectivamente. Se considera que la retención es óptima cuando los factores de capacidad están comprendidos entre 1 y 10,

$$\alpha = \frac{K'_b}{K'_a} \quad [4]$$

siendo a y b los dos componentes que interesa separar.

La separación entre a y b en una mezcla será posible cuando α tenga un valor distinto de uno, obteniéndose en la práctica separaciones adecuadas con valores superiores a 1,14.

METODO

- Fase móvil compuesta por mezclas de metanol-agua

La columna empleada es la Microbondapak (300 x 2 mm) y el flujo de 0,4 y 0,5 ml/min.

- Fase móvil compuesta por mezclas de acetonitrilo (AcCN) y acetato sódico 0,01 M (AcNa 0,01 M).

Se realizan las cromatografías empleando una columna Novapak C₁₈ de 4 μ m (150 x 3,9 mm) y un flujo de 1 ml/min.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

En la tabla IX se recogen los tiempos de retención de los 3 compuestos (Ibuprofeno, Lobuprofeno y Cloroalcanol) obtenidos en las distintas mezclas de metanol y agua, indicándose también las constantes dieléctricas de las mismas y la proporción de sus componentes.

La representación gráfica de T_R frente a ϵ se muestra en la figura 3.

Los resultados obtenidos, cuando la fase móvil está formada por mezclas de AcCN-AcNa 0,01 M, se expresan en la tabla X.

La representación gráfica de T_R frente a porcentaje de acetato sódico 0,01 M en la fase móvil se muestra en la figura 4.

Los cromatogramas correspondientes a las muestras de Lobuprofeno, Cloroalcanol, Ibuprofeno y su mezcla se encuentran en la figura 5. Estos cromatogramas han sido obtenidos con una fase móvil compuesta por AcCN:AcNa 0,01 M en proporciones 95:5.

Se calculan, empleando esta fase móvil, el factor de capacidad y la selectividad para los compuestos en estudio. Para ello se utiliza, como molécula no retenida, el nitrato sódico al 3 % en agua, para la que se tiene un T_R de 0,930 min. De esta forma se obtienen los resultados siguientes:

$$K'_{\text{Lobuprofeno}} = 1,47$$

$$K'_{\text{Ibuprofeno}} = 0,69$$

$$K'_{\text{Cloroalcanol}} = 0,42$$

La selectividad α entre los picos correspondientes a Lobuprofeno e Ibuprofeno es:

$$\alpha = \frac{1,47}{0,69} = 2,13$$

Al comprobar la influencia que ejerce el pH de la fase móvil sobre los tiempos de retención, se obtienen los resultados que se recogen en la tabla XI y su representación gráfica corresponde a la figura 6.

Aunque sería posible realizar la separación empleando mezclas de metanol:agua como fase móvil, la calidad de los cromatogramas obtenidos no es muy buena, ya que se

aprecia cola en el pico correspondiente al Cloroalcanol en todos los casos y cola en todos los picos a partir de una concentración de agua del 10 %, que es el punto en que se incrementa la diferencia en los tiempos de retención.

Con todas las otras fases móviles empleadas no se consigue una buena separación entre Cloroalcanol e Ibuprofeno ni con altos tiempos de retención para el Lobuprofeno, ni aunque se modifique el valor de pH del medio. Al ser el objetivo de la analítica del Lobuprofeno obtener una buena separación entre esta molécula y la de sus productos de degradación, y por lo que se puede observar por el valor de selectividad α obtenido, esto ya se consigue para una composición de fase móvil de AcCN:AcNa 0,01 M 95:5, elegimos esta fase por la gran rapidez con la que eluye el Lobuprofeno, lo cual es importante cuando se tienen que inyectar gran número de muestras.

SISTEMA DE ELUCION	COMPOSICION	R _f		
		Ibuprofeno	Lobuprofeno	Cloroalcanol
1 cloroformo:metanol	10:1	0,84	0,94	0,48
2 benceno:metanol:ác.acético	30:70:0,4	0,92	0,80	0,53
3 n-butanol:ác.acético:agua (fase super.)	5:1:4	0,92	0,69	0,42
4 n-butanol:ác.acético:agua	9:1:3	0,95	0,65	0,39
5 benceno:metanol:ác.acético	90:16:8	0,83	0,74	0,17
6 cloroformo:acetona:ác.acético	70:20:10	0,94	0,26	0,03
7 benceno:éter:ác.acético	8:3:1	0,77	0,79	0,27
8 benceno:tetrahidrofurano:ác.acético	25:3:3	0,79	0,18	0
9 metanol:amoníaco	100:5	0,77	0,75	0,80
10 benceno:metanol:acetato etilo:amoníaco	50:20:10:0,2	0,47	0,95	0,80
11 acetato etilo:benceno:metanol	40:40:15	0,88	0,91	0,37
12 metanol:amoníaco:agua	75:5:20	0,89	0,50	0,88
13 tolueno:ác.acético	9:1	0,46	0,02	0
14 benceno:acetato etilo:metanol:ac.acético	50:10:20:0,2	0,90	0,96	0,35
15 cloroformo:metanol	4:1	-	1,00	-
16 metanol		-	0,89	-

Tabla VI. CCF de Ibuprofeno, Lobuprofeno y Cloroalcanol. Valores de los R_f en distintos medios de elución.

SISTEMA DE ELUCION	COMPOSICION	ϵ
tolueno:ác.acético	9:1	2,76
benceno:éter:ác.acético	8:3:1	3,11
benceno:metanol:ác.acético	90:16:8	6,81
cloroformo:metanol	10:1	7,33
acetato etilo:benceno:metanol	40:40:15	8,64
benceno:acetato etilo:metanol:ác.acético	50:10:20:0,2	10,32
benceno:metanol:ác.acético	30:70:0,4	23,45
n-butanol:ác.acético:agua	9:1:3	30,44
n-butanol:ác.acético:agua (fase superior)	5:1:4	36,89

Tabla VII. Constante dieléctrica de distintos sistemas de elución empleados en la cromatografía de capa fina.

Columna	T _R (min)		
	Ibuprofeno	Lobuprofeno	Cloroalcanol
Hypersil ODS	-	1,54	-
Novapak C ₁₈	1,72	1,72	1,72
Microbondapak	2,45	2,44	3,05

Tabla VIII. Tiempos de retención del Ibuprofeno, Lobuprofeno y Cloroalcanol, empleando distintas columnas, en cromatografía de líquidos de alta resolución, en fase reversa. Fase móvil: metanol; flujo: 0,5 ml/min; cantidad inyectada: 3 µg.

COMPOSICION F.MOVIL METANOL:AGUA	ϵ	Flujo (ml/min)	T_R (min)		
			Ibuprofeno	Lobuprofeno	Cloroalcanol
100:0	32,63	0,5	2,45	2,44	3,05
99:1	33,08	0,5	-	2,53	-
97:3	34,00	0,5	-	2,63	-
95:5	34,92	0,5	2,91	3,09	-
93:7	35,84	0,5	3,13	3,43	2,76
90:10	37,22	0,5	3,68	4,27	2,78
90:10	37,22	0,4	4,55	5,26	3,38
88:12	38,13	0,4	5,19	6,32	3,54
85:15	39,51	0,4	6,73	8,63	3,75

Tabla IX. RP-HPLC de Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcanol. Tiempos de retención en función de la constante dieléctrica (ϵ) de la fase móvil. Columna: Microbondapak C₁₈ (Waters); cantidad inyectada: 3 μ g.

COMPOSICION F.MOVIL AcCN:AcNa 0,01 M	T _R (min)		
	Ibuprofeno	Lobuprofeno	Cloroalcanol
95:5	1,57	2,30	1,32
90:10	1,02	2,99	1,36
85:15	1,03	4,10	1,37
80:20	0,98	5,78	1,38
73:27	0,92	10,05	1,42
60:40	1,00	34,27	1,76

Tabla X. RP-HPLC de Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcanol. Tiempos de retención en función del porcentaje de acetato sódico 0,01M en la fase móvil. Columna: Novapak C₁₈ (Waters); Cantidad inyectada: 3 µg; Flujo: 1 ml/min.

pH DE LA F. MOVIL	T _R (min)		
	Ibuprofeno	Lobuprofeno	Cloroalcanol
4,8	1,73	6,27	1,43
5,5	1,71	8,39	1,49
8,1	0,92	10,05	1,42

Tabla XI. RP-HPLC de Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcanol. Tiempos de retención en función del pH de la fase móvil compuesta por AcCN/AcNa 0,01M/Ac. acético (73/27/c.s.p. pH). Columna: Novapak C₁₈ (Waters); Flujo: 1 ml/min; Cantidad inyectada: 3 µg.

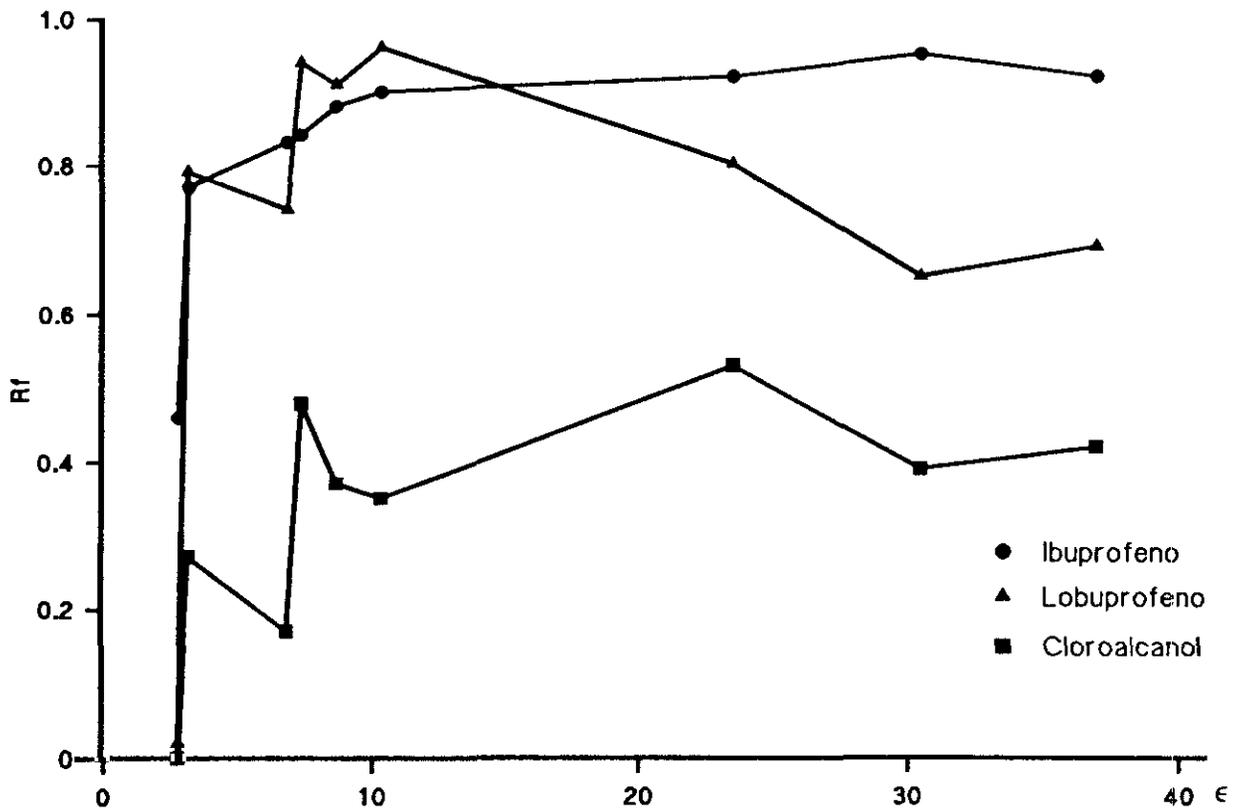


Figura 2. CCF del Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcohol. Representación gráfica de los valores de R_f en función de la constante dieléctrica (ϵ) del eluyente.

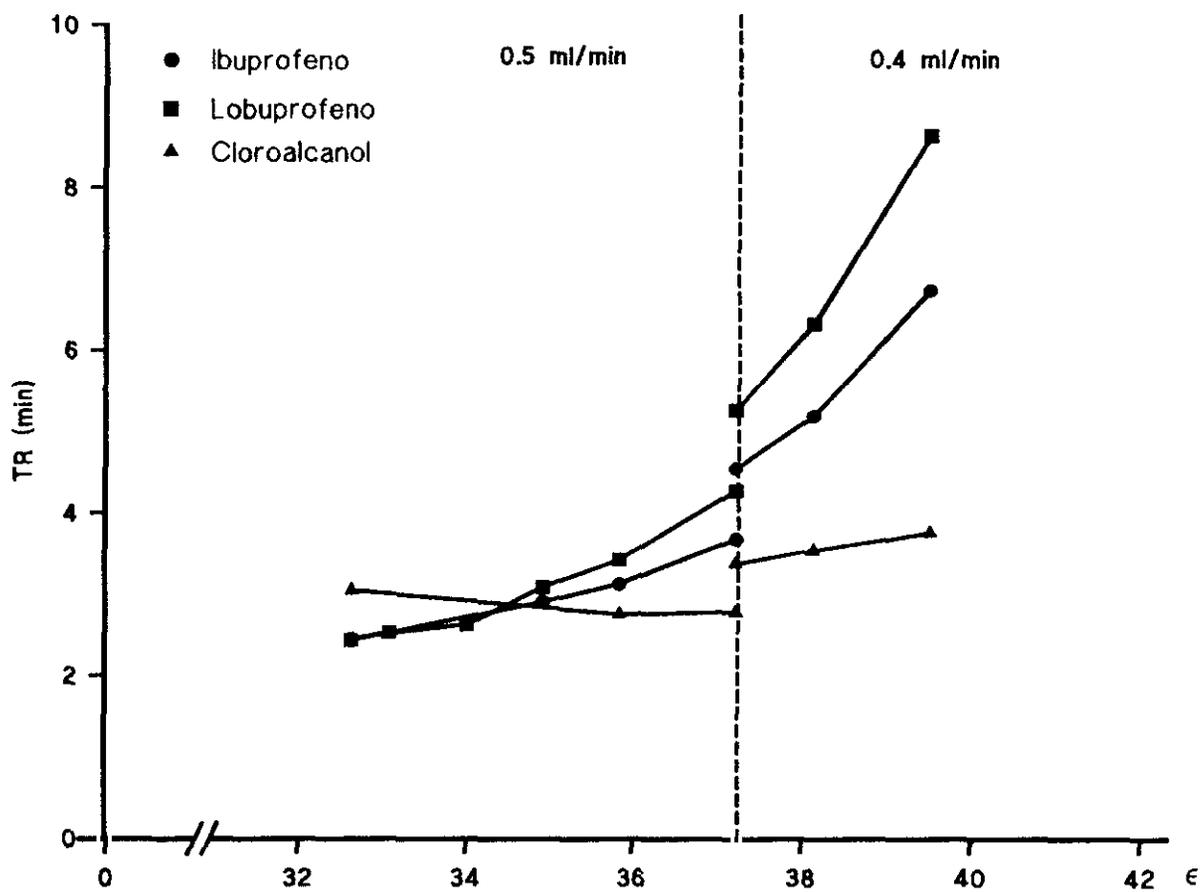


Figura 3. RP-HPLC del Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcanol. Representación gráfica de tiempos de retención frente a la constante dieléctrica de la fase móvil constituida por distintas proporciones de metanol-agua. Columna: Microbore C₁₈ (Waters). Cantidad inyectada: 3 μg.

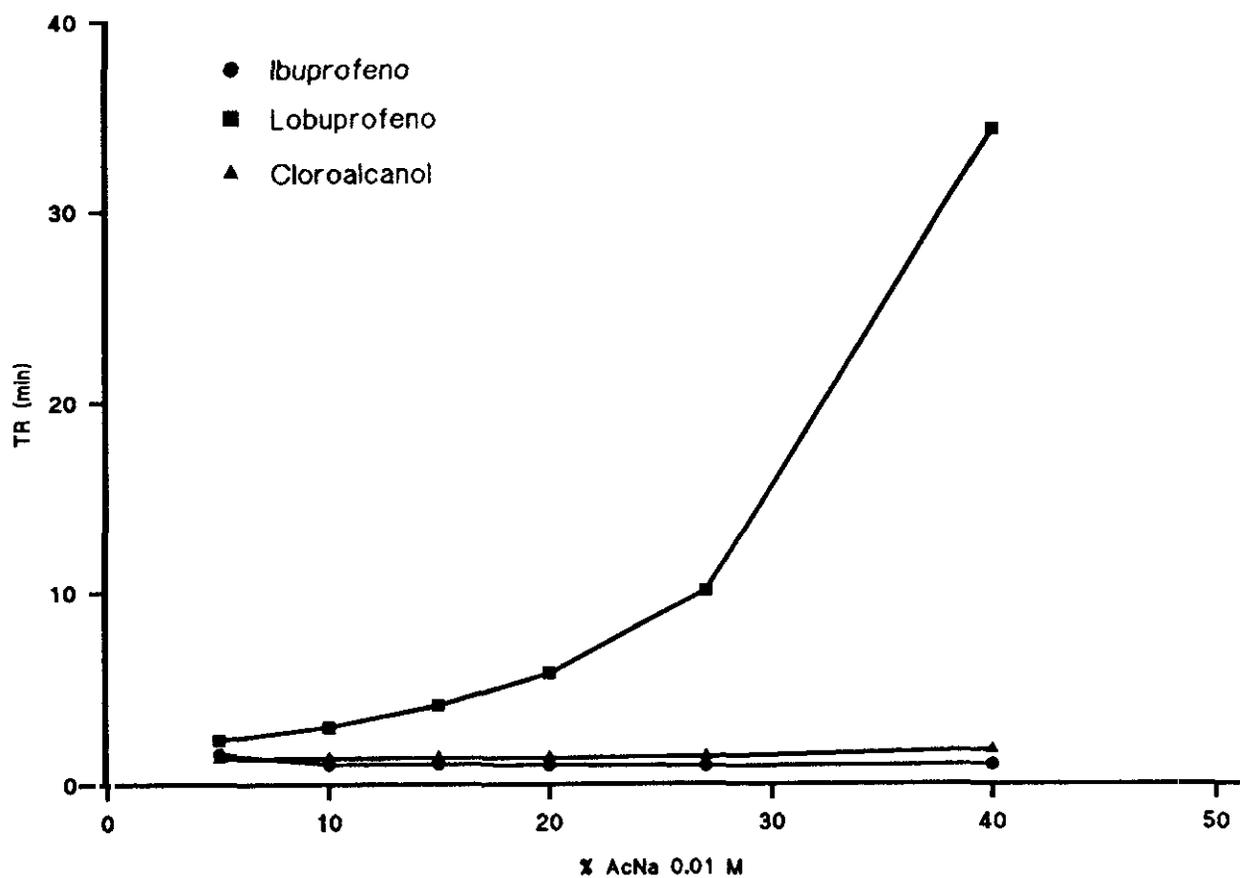


Figura 4. RP-HPLC del Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcohol. Representación gráfica de los tiempos de retención frente al % de acetato sódico 0,01 M en la fase móvil. Columna: Novapak C₁₈ (Waters); Flujo: 1 ml/min; cantidad inyectada: 3 µg.

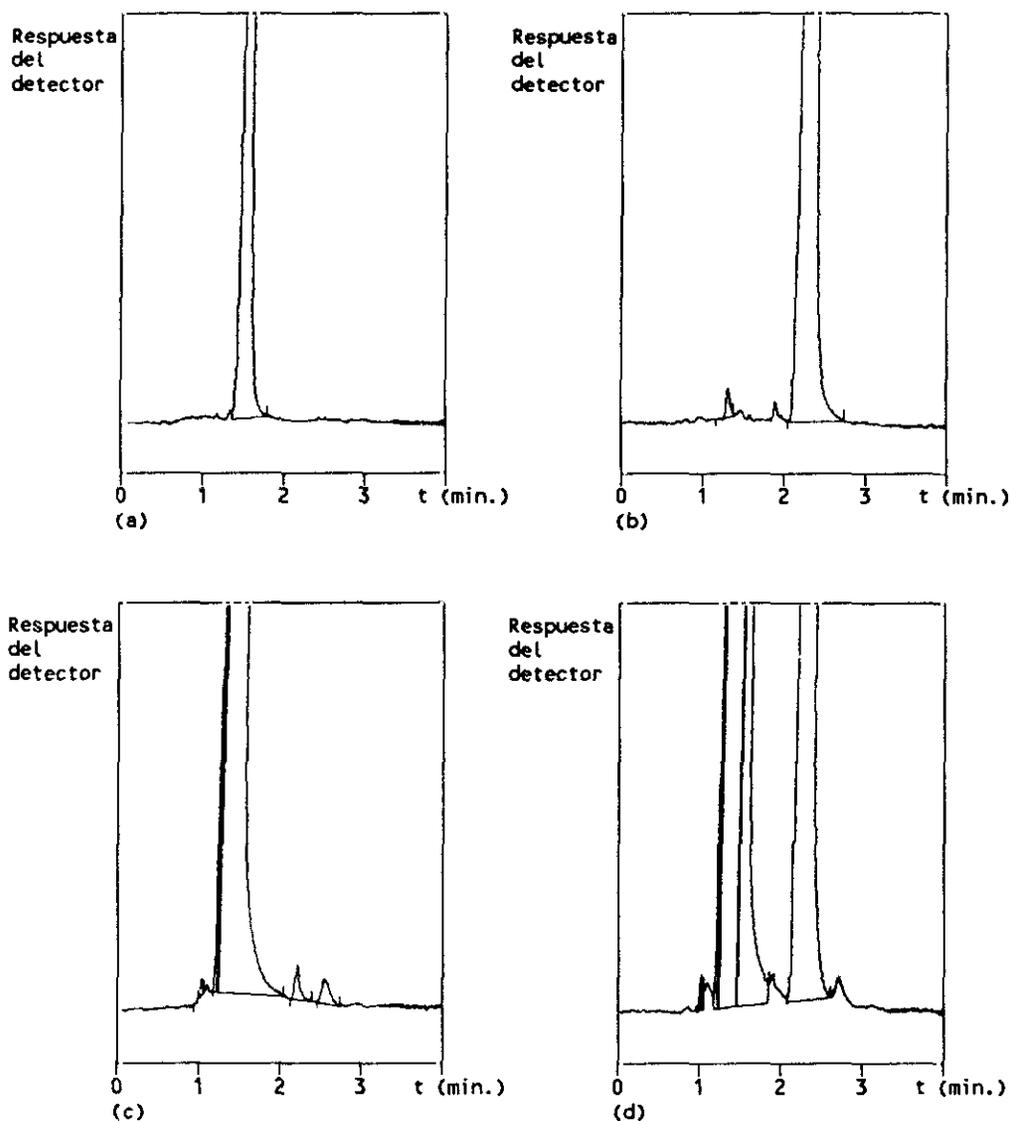


Figura 5. Cromatogramas correspondientes al análisis por RP-HPLC de: a) Ibuprofeno, $t_R = 1,569$ min; b) Lobuprofeno, $t_R = 2,303$ min; c) Cloroalcohol $t_R = 1,326$ min y d) mezcla de los 3. Columna: Novapak C_{18} (Waters); eluyente: AcCN/AcNa 0,01 M (95/5); flujo: 1 ml/min; cantidad inyectada: 3 μg de cada componente.

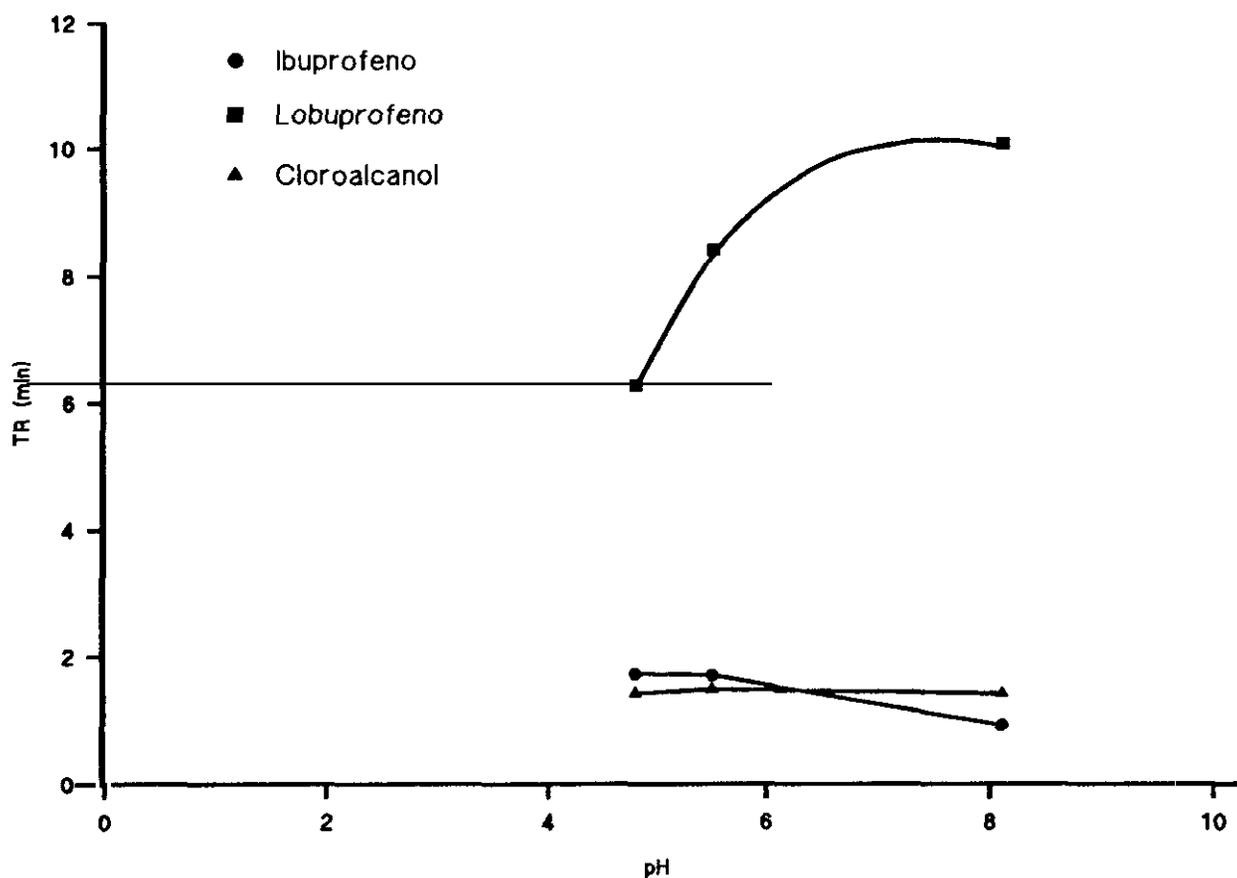


Figura 6. RP-HPLC de Lobuprofeno, Ibuprofeno y Cloroalcanol. Representación gráfica de los tiempos de retención en función del pH de la fase móvil compuesta por AcCN/AcNa 0,01 M/Ac. acético (73/27/c.s.p. pH). Columna: Novapak C₁₈ (Waters); flujo: 1 ml/min; cantidad inyectada: 3 µg.

2.3.- ANALISIS CUANTITATIVO, VALIDACION DE LOS METODOS DE ESPECTROFOTOMETRIA UV Y CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCION EN FASE REVERSA (RP-HPLC).

Uno de los métodos físicoquímicos más empleados en análisis es el de la medida de absorción o emisión de la energía radiante. La gran difusión de esta técnica es consecuencia de los factores siguientes: 1 - el amplio intervalo de longitudes de onda o de frecuencias de energía radiante y sus diferentes modos de interacción con la materia; 2 - la existencia en el mercado de instrumentos de medida cada vez más precisos; 3 - las ventajas inherentes al método. Generalmente, el análisis es muy rápido, una vez que se ha establecido el método, siendo muy cómodo para medidas repetidas de un mismo constituyente⁽⁴¹⁾. Por ello, se ha elegido la espectrofotometría de absorción ultravioleta como uno de los métodos para el análisis cuantitativo del Lobuprofeno. El otro método elegido es la cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC), ya que, aunque es más laborioso que la espectrofotometría, es muy selectivo si se eligen adecuadamente las condiciones de análisis.

Para completar la puesta a punto de un método analítico específico de un principio activo es necesario realizar la validación de dicho método⁽⁴²⁻⁴⁹⁾. Se llama validación a la obtención de pruebas, convenientemente documentadas, demostrativas de que un método de fabricación o control es lo suficientemente fiable como para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos. Es necesario, por tanto, disponer de un adecuado equipo que permita la realización satisfactoria del análisis.

Para proceder a la validación se han tomado como referencia y de forma general, los requisitos que a tal efecto han sido publicados en los siguientes organismos: CEE, OMS, Pharmacopeial Forum (FP) y Centro Nacional de Farmacobiología (CNF).

Los requisitos para la validación de un método analítico dependerán de la finalidad para la que dicho método ha sido diseñado. Así pues, y en nuestro caso, nos referiremos a los exigidos para métodos analíticos diseñados para cuantificar componentes mayoritarios en la materia prima. Dichas exigencias aparecen reflejadas en la tabla XII. En esta tabla se hace mención a la selecti-

vidad. La selectividad del método de RP-HPLC ha sido estudiada en el desarrollo del análisis cualitativo del Lobuprofeno. En cuanto a la selectividad del método de espectrofotometría UV, ya se ha demostrado, al realizar los estudios de absorción, la interferencia producida por los productos resultantes de la hidrólisis del Lobuprofeno (hipotéticos productos de degradación), a las longitudes de onda de máxima absorción de la molécula en estudio. Por ello, el método espectrofotométrico se empleará sólo para cuantificar el Lobuprofeno en aquellos casos en los que se tenga la certeza de que no está acompañado de productos de degradación, certeza a la que se habrá de llegar por medio de otras técnicas analíticas, como son la cromatografía en capa fina y la cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa.

2.3.1. METODO

2.3.1.1. Parámetros de validación

- Límite de detección:

Se define como la mínima cantidad de analito que puede ser detectada en una muestra.

Para estudiar el límite de detección se procede del siguiente modo:

Se prepara un blanco adicionando una cantidad de analito conocida, tan pequeña que dé una señal apenas diferenciable del ruido de fondo.

Se prepara una muestra con una cantidad de analito conocida y perfectamente medible.

Se calculan dos límites de detección:

a) Basado en la relación señal/ruido:

La desviación tipo de la señal a la concentración más baja dividida por la pendiente de la recta de regresión definida por todos los puntos disponibles y multiplicada por el valor de t (Student) correspondiente a un nivel de probabilidad de 0,99.

b) Basado en el término independiente:

Si el término independiente es significativo a un umbral de 0,90 y tiene valor positivo, se presenta también este segundo límite de detección como el término independiente de la recta de regresión dividido por la pendiente de la misma.

- **Límite de cuantificación:**

Se estima sumando la media de las respuestas a concentración baja dividida por la pendiente de la recta de regresión, al límite de detección basado en la relación señal/ruido.

- **Intervalo de concentración-linealidad:**

Capacidad del método analítico para producir resultados directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra, en un intervalo definido. Los datos necesarios para calcular el intervalo de linealidad de la función concentración-respuesta se obtienen preparando una serie de muestras con diferentes concentraciones de analito y obteniendo sus respuestas, de manera que:

- La concentración inferior sea igual o superior al límite de cuantificación.
- La concentración superior dé una señal elevada pero dentro de la región óptima de respuesta del instrumento de medida.
- El número de muestras sea, idealmente, alto (no más de 20), de forma que las concentraciones se

encuentren lo más uniformemente posible repartidas en todo el intervalo experimental.

Se establece el intervalo de linealidad, mediante técnicas de correlación, a partir de los valores de concentración más bajos introducidos, incluyendo a los mismos.

- Sensibilidad:

Es la capacidad del método analítico para detectar pequeñas variaciones en concentración.

Se conoce con el nombre de SENSIBILIDAD DE CALIBRADO a la pendiente de la recta de calibración; a mayor pendiente, mayor sensibilidad. Las unidades de la sensibilidad de calibrado son, pues, unidad de respuesta/unidad de concentración. Se define también una SENSIBILIDAD ANALITICA obtenida dividiendo la pendiente de la recta de calibración por la desviación tipo de las respuestas en el punto considerado. La unidad de medida de la sensibilidad analítica es, pues, el inverso de la concentración.

Por ello se prefiere, por lo general, conocer la llamada CAPACIDAD DISCRIMINANTE, definida como la

menor diferencia de concentraciones que puede ponerse de manifiesto con una probabilidad dada y calculada, como el inverso de la sensibilidad analítica multiplicada por el valor del estadístico t a un umbral de probabilidad de 0.05 y los grados de libertad correspondientes a la muestra introducida.

Para conocer la sensibilidad de un método analítico se procede al siguiente programa experimental:

Preparar una serie de 5 a 10 muestras conteniendo la misma concentración de analito, igual al límite inferior del intervalo de concentración lineal.

Preparar una serie de 5 a 10 muestras conteniendo la misma concentración de analito, igual al límite superior del intervalo de concentración lineal.

Obtener las respuestas para todas y cada una de estas muestras.

Si el coeficiente de correlación de la recta de regresión definida por los datos introducidos es estadísticamente significativo ($p = 0,05$), se informa:

- La sensibilidad de calibrado como la pendiente de dicha recta de regresión, junto con su prueba de "t", que equivale al análisis de la varianza de la regresión, muy significativa si $p < 0,01$ y no significativa si $p > 0,1$.
- La sensibilidad analítica: se presentan tres valores de sensibilidad analítica: el correspondiente al límite inferior de concentraciones, el correspondiente al límite superior y una sensibilidad media obtenida con la desviación tipo residual de la regresión.
- La capacidad discriminante.

- Precisión:

Expresa el grado de acercamiento (de dispersión) entre los resultados individuales cuando el método se aplica repetidamente a múltiples muestras de una homogénea.

El término precisión es genérico de un grupo de parámetros (Reproducibilidad, Repetibilidad, etc.), cuya diferencia entre uno y otro está únicamente en el origen de los resultados analíticos.

Para estimar la "precisión del método analítico" se dispondrá de los resultados de varias determinaciones de una misma muestra inicial, preparándolo tantas veces como resultados vayan a obtenerse, efectuando el trabajo el mismo analista, en un mismo día, utilizando los mismos reactivos y el mismo instrumento de medida.

Para estimar la "precisión del instrumento de medida" se necesitan varias lecturas de una misma muestra final (preparada una sola vez) con el mismo instrumento de medida, por el mismo analista.

Para cada una de las precisiones a estudiar deben introducirse una serie de resultados (de 3 a 10), obtenidos conforme al diseño adecuado.

- Exactitud:

Se expresa como el grado de acercamiento entre el valor obtenido y el aceptado como valor verdadero.

Los datos necesarios para estimar la exactitud se obtienen realizando el siguiente programa experimental:

Preparar una serie de muestras a las que se adicionan diferentes cantidades exactamente conocidas de analito, de tal manera que se cubra prácticamente todo el intervalo de linealidad.

Cuantificar, por el procedimiento que se valida, el analito contenido en cada muestra.

Si el coeficiente de correlación de la recta definida por los puntos experimentales es estadísticamente significativo ($p < 0,05$), se efectúa:

- Test de error constante o de paralelismo comparando, mediante una prueba de "t", la pendiente de la recta de regresión cantidad añadida-cantidad recuperada con el valor teórico 1.
- Test de error proporcional o de proporcionalidad comparando, mediante una prueba de "t", el término independiente de la recta de regresión cantidad añadida-cantidad recuperada con el valor teórico 0.
- Test "t" de las diferencias valor teórico-valor hallado.

2.3.1.2. Tratamiento de datos

Todos los datos obtenidos en el presente apartado han sido procesados utilizando el programa de ordenador E.V.A. de validación de métodos analíticos.

2.3.1.3. Condiciones de análisis

2.3.1.3.1. Espectrofotometría UV

Las muestras, tanto del Lobuprofeno estándar como de la materia prima, se preparan a diferentes concentraciones en ClH 0,1 N. Las lecturas se realizan frente a un blanco del mismo disolvente, a una longitud de onda de 246 nm, empleando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

2.3.1.3.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución, en fase reversa RP-HPLC.

Las muestras, tanto del Lobuprofeno estándar como de la materia prima, se preparan en el mismo eluyente de cromatografía a diferentes concentraciones.

Columna: Novapak C₁₈, 4 μm (150 x 3,9 mm) (Waters);
Eluyente: Acetonitrilo/Acetato sódico 0,01 M (95/5);
Temperatura de la columna: 40 °C; Flujo: 1 ml/min; Volumen
de inyección: 3 μl; Longitud de onda de detección: 254 nm.

2.3.2. RESULTADOS

En la tabla XIII se muestran los resultados obtenidos en el cálculo del límite de detección para los dos métodos analíticos en estudio. Así, el límite de detección establecido para la espectrofotometría es de $1,2303 \times 10^{-3}$ mg/ml (relación señal-ruido), y para el RP-HPLC $6,6076 \times 10^{-4}$ μg (relación señal-ruido), trabajando en ambos casos con una $p = 0,01$. En el método de espectrofotometría UV, al ser el término independiente significativo a un umbral de 0,90, se calcula el límite de detección como dicho término independiente dividido por la pendiente de la recta de regresión correspondiente, obteniéndose un valor de $9,8142 \times 10^{-4}$ mg/ml.

En cuanto al límite de cuantificación, se establece en $3,4617 \times 10^{-3}$ mg/ml para la espectrofotometría UV y en $5,6371 \times 10^{-3}$ μg para el RP-HPLC, equivalente a una concen-

tración de $1,8790 \times 10^{-3}$ mg/ml, puesto que el volumen de inyección es de 3 μ l. A partir de estos valores podrán efectuarse ensayos cuantitativos.

Las tablas XIV y XV muestran los valores obtenidos en las curvas de calibración del Lobuprofeno, así como los parámetros estadísticos de las mismas. En el estudio del análisis de la varianza de la regresión se obtiene, para la espectrofotometría UV, un valor $F_{1,17}$ de 134291 ($p < 0,01$); en cuanto a la ecuación del calibrado, el coeficiente de correlación es igual a 0,9989 ($p < 0,01$). La figura 7 representa los datos concentración-respuesta. Respecto al RP-HPLC, el valor de $F_{1,18}$ es de 320888 ($p < 0,01$). El coeficiente de correlación es 0,9995 ($p < 0,01$). La figura 8 representa, al igual que en el caso anterior, los datos concentración-respuesta.

La tabla XVI recoge los resultados obtenidos para la determinación de la sensibilidad del método analítico. Se establece la sensibilidad del calibrado para la espectrofotometría UV en 19998 mAus/mg/ml y para el RP-HPLC en 995 mAus/ μ g. La sensibilidad analítica presenta, para la espectrofotometría UV, unos valores de 1480,66 1/mg/ml para la media, 1991,85 1/mg/ml en el límite inferior y

1230,17 1/mg/ml en el límite superior, con unos límites de confianza ($p = 0,05$) de 1444,06-1517,27; 1934,82-2048,-87 y 1194,95-1265,39 respectivamente, mientras que para el RP-HPLC se obtienen unos valores de 21,32 1/ μg para la media, 81,98 1/ μg en el límite inferior y 15,37 1/ μg en el límite superior, con unos límites de confianza ($p = 0,05$) de 21,11-21,54; 81,01-82,96 y 15,19-15,55 respectivamente. En cuanto a la capacidad discriminante, los valores para la espectrofotometría UV y RP-HPLC son, respectivamente, $1,499 \times 10^{-3}$ mg/ml y 0,109 μg para la media, $1,291 \times 10^{-3}$ mg/ml y 0,034 μg en el límite inferior y $2,089 \times 10^{-3}$ mg/ml y 0,183 μg en el límite superior ($p = 0,05$).

Para realizar el estudio de la precisión se ha estimado, tanto la del método analítico como la del instrumento de medida. Las tablas XVII y XVIII muestran los resultados obtenidos. Los coeficientes de variación son del 4,96 y 3,58 % para la espectrofotometría UV y RP-HPLC respectivamente, en el caso del método analítico. Para el instrumento, los coeficientes de variación son de 0,74 y 2,97 % respectivamente para ambos métodos.

La tabla XIX recoge los datos experimentales referidos a la exactitud del método analítico.

2.3.3. COMENTARIOS

Se ha procedido a la validación de los métodos analíticos de espectrofotometría UV (método A) y RP-HPLC (método B) para el Lobuprofeno.

Empleando ambos métodos individualmente o bien una combinación de los mismos, se puede cubrir toda la analítica (junto con la CCF) necesaria para llevar a cabo el estudio de preformulación de esta molécula.

Así, con los límites de cuantificación obtenidos, se pueden realizar aquellos estudios en los que la cantidad de analito es muy pequeña, como es el caso de la velocidad de disolución en condiciones SINK.

En cuanto a la linealidad de los 2 métodos estudiados, los coeficientes de correlación próximos a 1, así como los valores de la F_{exp} de Snedecor obtenidos en el análisis de la varianza de la regresión, confirman que para una $p < 0,01$, se puede aceptar el modelo lineal en el rango de concentraciones en el que se ha trabajado. Esto sugiere la excelente linealidad de ambos métodos analíticos.

La sensibilidad se relaciona con la cantidad de analito requerida para obtener un resultado significativo. La capacidad discriminante es superior en el método A que en el método B. También se muestra como método de mayor sensibilidad, tanto de calibrado como analítica, la espectrofotometría UV frente al RP-HPLC. Esto era previsible puesto que el detector de que está provisto el cromatógrafo de líquidos con el que se ha trabajado es un DAD (detector de diodos), que como es sabido, tiene una sensibilidad inferior a la de los detectores UV convencionales.

La precisión del método analítico es superior en el método B que en el método A (3,58 % frente a 4,96 % de coeficiente de variación); sin embargo, tal y como cabía esperar, la precisión del instrumento es superior en el método espectrofotométrico (0,74 % frente a 2,97 % de C. V.). Esto es lógico, puesto que en el RP-HPLC influyen más variables (columna, flujo, temperatura, inyector, etc.), admitiéndose normalmente como valores normales hasta un 5 % de coeficiente de variación.

La exactitud del método, dentro del rango de concentraciones estudiadas, es superior en la espectrofotome-

tría, ya que aunque en ninguno de los casos estudiados se encuentran diferencias de la pendiente y de la ordenada en el origen con respecto a los valores teóricos de 1 y 0 respectivamente, el estudio de "t" de las diferencias arroja un resultado de 3,1024 ($0,01 < p < 0,05$) para el método B frente a 1,3307 ($p > 0,1$) para el método A.

Por lo tanto, los dos métodos estudiados, espectrofotometría UV y RP-HPLC, cumplen con todos los requisitos planteados para su validación como métodos de análisis cuantitativo del Lobuprofeno. Será decisión del analista responsable del estudio elegir el método más adecuado en cada momento, en base a las exigencias subyacentes a cada uno de los ensayos a realizar.

PARAMETROS A VALIDAR	CEE	OMS	FP	CNF
LIMITE DE DETECCION LIMITE DE CUANTIFICACION			.	
LINEALIDAD
SENSIBILIDAD
EXACTITUD
PRECISION
SELECTIVIDAD		.	.	.

CEE: Comunidad Económica Europea.

OMS: Organización Mundial de La Salud.

FP: Pharmacopeial Forum.

CNF: Centro Nacional de Farmacobiología.

Tabla XII. Requisitos exigidos por distintos organismos para proceder a la validación de un método analítico diseñado para cuantificar componentes mayoritarios en materia prima.

Espectrofotometría UV		RP-HPLC	
C $1,25 \times 10^{-3}$ mg/ml	C 0,03 mg/ml	C x 3 μ l $4,67 \times 10^{-3}$ μ g	C x 3 μ l 2,10 μ g
(mAus)	(mAus)	(mAus)	(mAus)
39	545	5,56	2224
29	525	5,34	2042
46	610	4,99	2191
55	624	5,02	2047
36	598	5,05	2058
41	567	5,02	2079
39	567	4,88	2247
49	595	4,96	2118
-	564	5,07	2012
-	638	4,85	2164
-	590	4,74	2079
-	533	4,72	2147
$r = 0,9949$ ($p < 0,01$) $t_{pendiente} = 41,727$ ($p < 0,01$) $t_{ordenada} = 1,7613$ ($0,05 < p < 0,10$) (a) = $1,2303 \times 10^{-3}$ mg/ml (b) = $9,8142 \times 10^{-4}$ mg/ml (c) = $3,4617 \times 10^{-3}$ mg/ml		$r = 0,9988$ ($p < 0,01$) $t_{pendiente} = 95,292$ ($p < 0,01$) $t_{ordenada} = 1,9193 \times 10^{-2}$ ($p > 0,10$) (a) = $6,6076 \times 10^{-4}$ μ g (c) = $5,6371 \times 10^{-3}$ μ g	

(a) = Límite detección (señal-ruido) ($p = 0,01$)
(b) = Límite detección (término independiente)
(c) = Límite cuantificación

Tabla XIII. Validación de los métodos analíticos para el Lobuprofeno. Límite de detección. Límite de cuantificación.

ESPECTROFOTOMETRIA UV		RP-HPLC	
Concentración mg/ml	Respuesta mAus	Concentración x 3 μ l μ g	Respuesta mAus
0,0050	98	0,750	747
0,0050	118	0,750	731
0,0050	113	0,750	741
0,0050	116	0,750	759
0,0100	221	0,750	729
0,0100	211	2,100	2082
0,0100	212	2,100	2046
0,0200	412	2,100	2122
0,0200	426	2,100	2089
0,0200	402	2,100	2070
0,0200	411	3,000	2972
0,0300	610	3,000	2922
0,0300	598	3,000	3042
0,0300	595	3,000	2976
0,0300	638	3,000	2917
0,0400	800	4,200	4158
0,0400	807	4,200	4089
0,0400	796	4,200	4269
0,0400	833	4,200	4158
		4,200	4194

Tabla XIV. Validación de los métodos analíticos para el Lobuprofeno. Linealidad. Intervalo de concentración.

	ESPECTROFOTOMETRIA UV	RP-HPLC
n	19	20
Coef. correlación	0,9989 (p < 0,01)	0,9995 (p < 0,01)
Término independiente (mAus)	13,659	-6,624
Pendiente UV (mAus/mg/ml) RP-HPLC (mAus/ μ g)	19881	994
S _{término independiente}	5,631	20,938
S _{pendiente}	224	7
C.V. (%) pendiente	1,126	0,749
ANOVA test (F)	134291 (p < 0,01)	320888 (p < 0,01)

Tabla XV. Validación de los métodos analíticos para el Lobuprofeno. Linealidad. Parámetros de la ecuación de calibrado. Análisis de la varianza de regresión.

Espectrofotometría UV		RP-HPLC	
C 0,005 mg/ml	C 0,040 mg/ml	C x 3 μ l 0,750 μ g	C x 3 μ l 4,200 μ g
(mAus)	(mAus)	(mAus)	(mAus)
98	800	747	4158
118	807	731	4089
113	796	741	4269
116	833	759	4158
103	818	729	4194
94	789	-	-
<u>Sensibilidad calibrado</u> = 19998 mAus/mg/ml t (pendiente) = 89,79 (p = 0,05) <u>Capacidad discrim.</u> (mg/ml) (p = 0,05) Media = $1,499 \times 10^{-3}$ En el límite inferior = $1,291 \times 10^{-3}$ En el límite superior = $2,089 \times 10^{-3}$ <u>Sensib. analítica</u> (1/mg/ml) Límites confianza (p=0,05) Media = 1444,06-1517,27 En el límite inferior = 1934,83-2048,87 En el límite superior = 1194,95-1265,39		<u>Sensibilidad calibrado</u> = 995 mAus/ μ g) t (pendiente) = 115,17 (p 0,01) <u>Capacidad discrim.</u> (μ g) (p = 0,05) Media = 0,109 En el límite inferior = 0,034 En el límite superior = 0,183 <u>Sensib. analítica</u> (1/ μ g) Límites confianza (p=0,05) Media = 21,11-21,54 En el límite inferior = 81,01-82,96 En el límite superior = 15,19-15,55	

Tabla XVI. Validación de los métodos analíticos para el Lobuprofeno. Sensibilidad.

ESPECTROFOTOMETRIA UV (C = 0,03 mg/ml)	RP-HPLC (C x 3 µl = 2,10 µg)
Respuesta (mAus)	Respuesta (mAus)
590	2046
638	2195
564	2050
595	2061
567	2082
598	2250
624	2122
610	2015
545	2168
567	2150
$\bar{X} = 589$ $s = 29,264$ $CV (\%) = 4,96$ $i.c. (p = 0,05) = 568-610$	$\bar{X} = 2114$ $s = 75,783$ $CV (\%) = 3,58$ $i.c. (p = 0,05) = 2060-2168$

Tabla XVII. Validación de los métodos analíticos para el Lobuprofeno. Precisión del método analítico.

ESPECTROFOTOMETRIA UV (C = 0,03 mg/ml)	RP-HPLC (C x 3 µl = 2,10 µg)
Respuesta (mAus)	Respuesta (mAus)
594	2425
610	2380
605	2342
606	2306
607	2281
608	2263
608	2255
608	2240
608	2228
608	2224
$\bar{x} = 606$ $s = 4,498$ $CV (\%) = 0,74$ $i.c. (p = 0,05) = 602,8-609,2$	$\bar{x} = 2294$ $s = 68,169$ $CV (\%) = 2,97$ $i.c. (p = 0,05) = 2245-2343$

Tabla XVIII. Validación de los métodos analíticos para el Lobuprofeno. Precisión del instrumento.

ESPECTROFOTOMETRIA UV		RP-HPLC	
Cantidad añadida mg/ml	Cantidad recuperada mg/ml	Cantidad añadida µg	Cantidad recuperada µg
0,009862	0,010569	0,750	0,720
0,029585	0,030594	0,750	0,756
0,039446	0,040201	2,100	2,100
0,019720	0,018440	2,100	2,064
0,039446	0,038365	3,000	2,970
0,009850	0,009770	3,000	2,946
0,019703	0,019300	4,200	4,170
0,039406	0,038210	4,200	4,110
0,019720	0,018490	-	-
0,039446	0,038360	-	-
Pendiente = 0,9848 No difiere del valor teórico 1 ($p > 0,10$) Ordenada = $1,5854 \times 10^{-5}$ No difiere del valor teórico 0 ($p > 0,10$) t = 1,3307 ($p > 0,10$)		Pendiente = 0,9853 No difiere del valor teórico 1 ($0,10 > p > 0,05$) Ordenada = $3,7892 \times 10^{-3}$ No difiere del valor teórico 0 ($p > 0,10$) t = 3,1024 ($0,01 < p < 0,05$)	

Tabla XIX. Validación de los métodos analíticos para el Lobuprofeno. Exactitud.

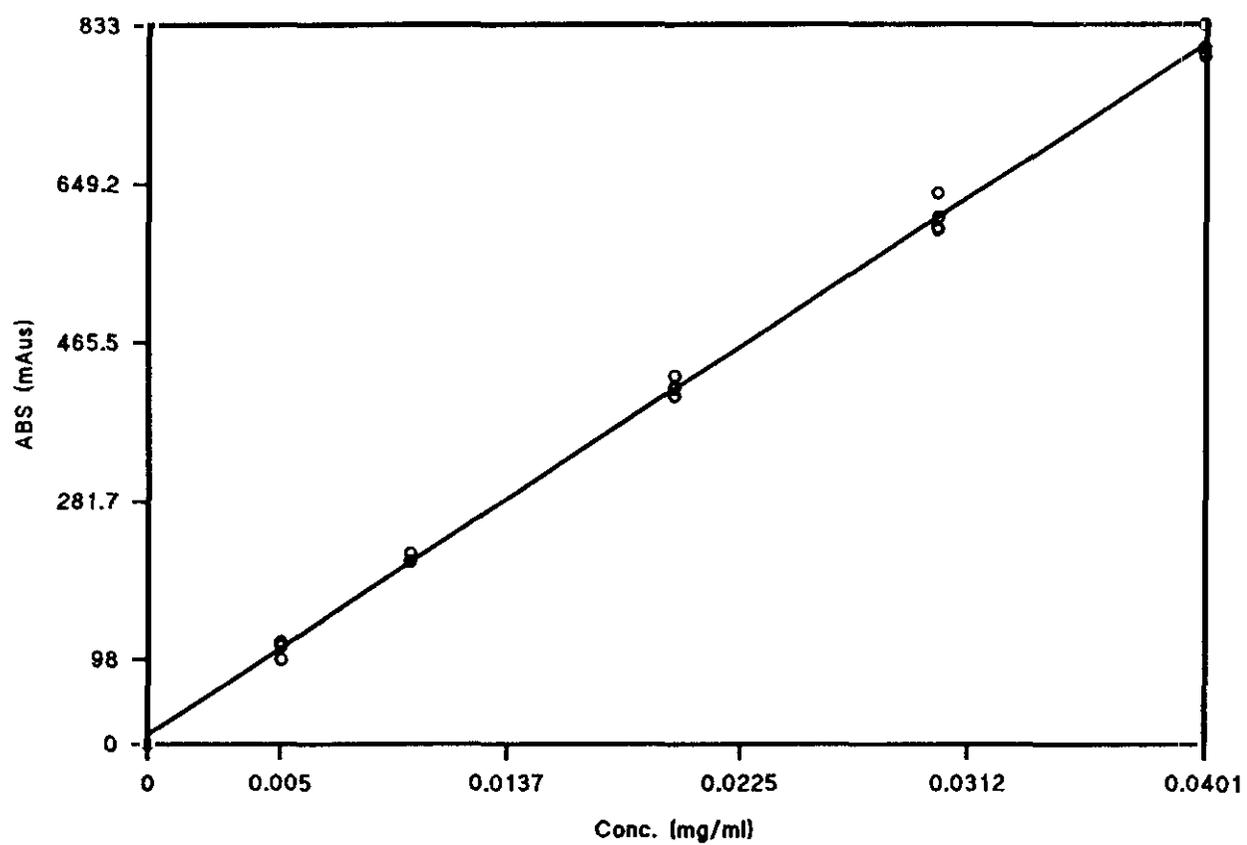


Figura 7. Representación gráfica de todos los datos introducidos para estimar la linealidad del método de espectrofotometría UV.

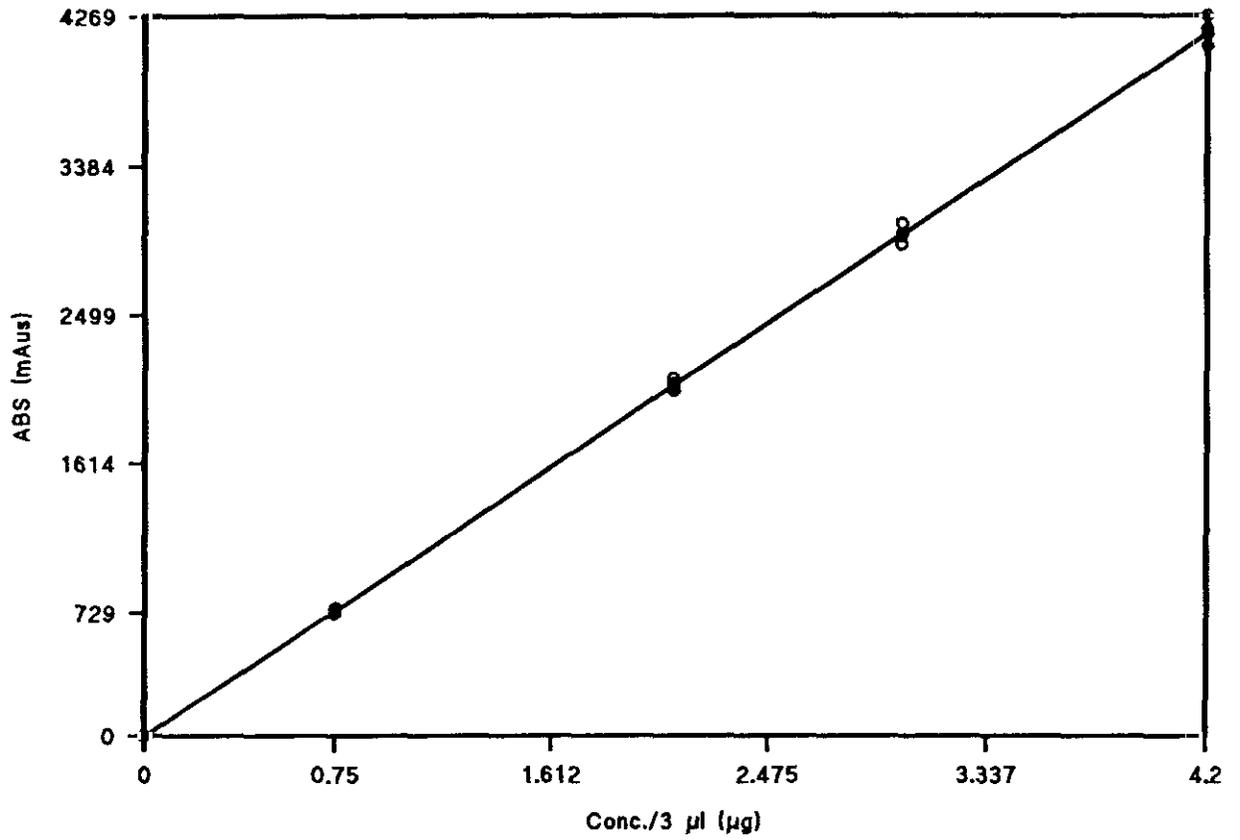


Figura 8. Representación gráfica de todos los datos introducidos para estimar la linealidad del método de RP-HPLC.

2.4.- RESUMEN Y DESCRIPCION DE LOS METODOS SELECCIONADOS
PARA EL ANALISIS DEL LOBUPROFENO.

2.4.1. ANALISIS CUALITATIVO

Cromatografía en capa fina.

Placas: Sílicagel 60 F₂₅₄ de Merck, 5 x 20 cm, 0,25 mm de espesor.

Eluyente: n-butanol:ácido acético:agua (9:1:3).

Recorrido: Ascendente, 10 cm.

Preparación de las muestras: El Lobuprofeno se disuelve en cloroformo a una concentración de 2 mg/ml, realizándose aplicaciones de 5 μ l, a 1 cm aproximadamente de la base de las placas.

Revelador: Método 1: Vapores de yodo.

Método 2: Radiación U.V. de $\lambda = 254$ nm.

Método 3: Rocíar las placas con una mezcla de 0,2 ml de formaldehído al 37 % y 10 ml de SO₄H₂ concentrado e introducirlos posteriormente en estufa a 100 °C.

2.4.2. ANALISIS CUANTITATIVO

El análisis cuantitativo del Lobuprofeno se realizará valorando las muestras problema frente a un estándar de la misma molécula, purificado por cristalización.

2.4.2.1. Espectrofotometría U.V.

Preparación del estándar: A partir de una solución madre de 1 mg/ml en metanol, se realiza una curva de calibrado con Lobuprofeno estándar en ClH 0,1 N dentro de un rango de concentraciones de 0,005-0,04 mg/ml.

Preparación de la muestra problema: Se realizan las diluciones necesarias con ClH 0,1 N para obtener una concentración teórica que se encuentre dentro del intervalo de la curva de calibrado.

Las lecturas se efectúan a 246 nm frente a un blanco del mismo disolvente.

Cálculos:

Interpolando los valores de absorbancia obtenidos para la muestra problema en la curva de calibrado (coeficiente de regresión superior o igual a 0,99), se obtienen

las concentraciones correspondientes, que se corregirán en función de las diluciones efectuadas.

2.4.2.2. Cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC)

Cromatógrafo de líquidos provisto de detector UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

Columna: Novapak C₁₈, 4 μ (150 x 3,9 mm) (Waters).

Eluyente: Acetonitrilo/Acetato sódico 0,01 M (95/5).

Temperatura de la columna. 40 °C.

Flujo: 1 ml/min.

Volumen de inyección: 3 μ l.

Longitud de onda de detección: 254 nm.

Tiempo de análisis: 3,5 min.

Preparación del estándar: Se realiza una curva de calibrado de Lobuprofeno estándar en el eluyente, dentro de un rango de concentraciones de 0,25-1,4 mg/ml.

Preparación de la muestra problema: Se realizan las diluciones necesarias con el eluyente, para obtener una concentración teórica que se encuentre dentro del intervalo de la curva de calibrado.

Todas las muestras se pasan por filtros de membrana DURAPORE, antes de proceder a la inyección.

Cálculos:

Interpolando los valores obtenidos para las respuestas (áreas) de la muestra problema en la curva de calibrado cuyo coeficiente de regresión ha de ser igual o superior a 0,99, se obtienen las concentraciones correspondientes, que se corregirán en función de las diluciones efectuadas.

3. PREFORMULACION

3.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y FÍSICO-QUÍMICAS QUE PUEDEN AFECTAR AL DESARROLLO DE LA FORMA FARMACÉUTICA

3.1.A. DE INTERÉS GENERAL

3.1.A.1. FORMA, TAMAÑO DE PARTÍCULA Y SUPERFICIE ESPECÍFICA

3.1.A.1.1 Forma

La forma puede ser determinada por examen microscópico, bien usando microscopio óptico, preferiblemente con filtro de polarización, bien por microscopía electrónica de barrido. Las características morfológicas pueden ser recogidas por medio de una fotomicrografía.

El microscopio de polarización también puede ser usado para determinar si el compuesto es amorfo o cristalino. Los materiales cristalinos refractan la luz polarizada y se hacen visibles cuando los ejes del analizador y del polarizador están cruzados con un ángulo de 90°, mientras que el material amorfo permanece invisible.

Mientras que los microscopios ópticos generalmente operan hasta con 1000 aumentos, con un límite de resolución de aproximadamente 1 μm , el microscopio electrónico

de barrido proporciona por encima de 200.000 aumentos, con una resolución de aproximadamente 25 Å, lo que permite estudiar la morfología superficial de las partículas de una forma muy detallada. Esto permite determinar si la muestra es morfológicamente homogénea. La aparición de mezclas de distintas formas puede indicar la existencia de hidratos, solvatos o polimorfos, lo cual podría afectar significativamente a propiedades como la solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad.

METODO

En microscopía óptica las muestras son observadas directamente a 100 aumentos. Se obtienen las fotomicrografías utilizando una película Agfa PAN 25.

Para la microscopía electrónica las muestras se someten a un proceso previo de metalización, con el fin de favorecer la conductividad, para lo cual se introducen en un metalizador Edwards durante 5 minutos, obteniendo una capa de oro de aproximadamente 600 Å. Las fotomicrografías se obtienen con una película Plus x PAN de Kodak.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Las fotomicrografías obtenidas se muestran en las figuras 9 a 12.

Empleando el filtro de polarización en el microscopio óptico, las partículas aparecen visibles y brillantes, por ello se confirma que el Lobuprofeno es un producto cristalino. Mientras que con esta técnica microscópica sólo se obtienen imágenes bidimensionales, con la microscopía electrónica de barrido se observan las partículas en tres dimensiones, apareciendo claramente cristalizaciones en forma de placas y agujas. Las características morfológicas observadas permiten prever dificultades para el deslizamiento de los cristales, por lo que no se espera encontrar para el Lobuprofeno unas buenas propiedades de fluidez.

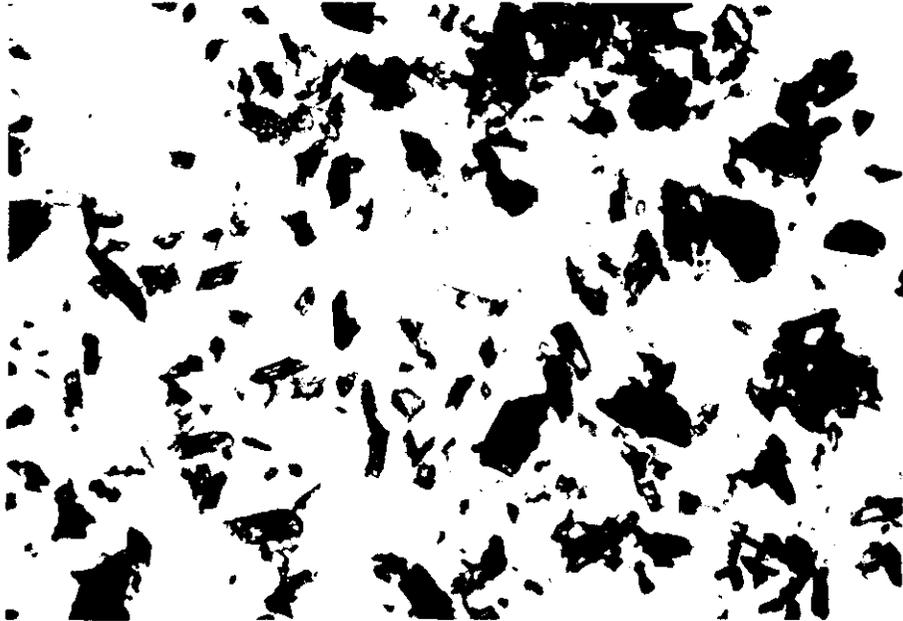


Figura 9. Examen microscópico del Lobupropfen. Imagen obtenida con el microscopio óptico a 100 aumentos.



Figura 10. Examen microscópico del Lobupropfen. Imagen obtenida con microscopio electrónico de barrido a 350 aumentos.



Figura 11. Examen microscópico del Lobuprofeno. Imagen obtenida con microscopio electrónico de barrido a 2000 aumentos.



Figura 12. Examen microscópico del Lobuprofeno. Imagen obtenida con microscopio electrónico de barrido a 5000 aumentos (Detalle de la superficie).

3.1.A.1.2. Tamaño de partícula y superficie específica

El tamaño de las partículas se suele definir mediante dos parámetros: el diámetro medio y la superficie específica (superficie por unidad de peso), siendo imprescindible hacer referencia a la distribución de las mismas. Desde el punto de vista del estudio granulométrico de sólidos pulverulentos o granulados para la preparación de comprimidos, cabe destacar que cuando el diámetro medio se encuentra entre 2000 y 250 μm , normalmente existen buenas propiedades de flujo, por lo que no es previsible que surjan problemas para efectuar una compresión directa; sin embargo, sí son frecuentes las dificultades con los de tamaño inferior, lo que aconseja llevar a cabo una granulación, bien directamente o con una previa pulverización⁽⁵⁰⁾. En cuanto a la distribución, para que las operaciones de mezcla y compresión se lleven a cabo correctamente, las partículas han de presentar una distribución unimodal con un bajo valor de dispersión, aunque normalmente una pequeña proporción de finos favorece una mejor fluidez del material.

La complejidad para conocer las características de los materiales, especialmente en lo que se refiere a las

propiedades granulométricas, ha sido la causa por la que han surgido gran variedad de métodos y técnicas instrumentales, así, entre otras, cabe citar⁽⁵¹⁾: Pipeta de Andreasen, permeabilidad al aire o método Blaine, tamizador neumático Alpine, Sedigraph, contador de partículas Coulter, ... etc. En la actualidad, es la tecnología Láser⁽⁵²⁻⁵⁴⁾ la que ha alcanzado un gran protagonismo, ya que es capaz de proporcionar resultados con gran rapidez, precisión y reproducibilidad, por lo que en el momento presente se sitúa como método alternativo a los ya existentes y anteriormente citados. Aunque es una técnica nueva, sin embargo está basado en el sistema de producir figuras de difracción de Fraunhofer (1817) y en las intensidades de distribución de Airy (1835), investigaciones desarrolladas en el siglo pasado. Cuando se hace incidir un rayo Láser monocromático a través de un flujo gaseoso o líquido no reactivo, portadores de la muestra, se produce una difracción de la luz que a través de un sistema óptico origina en el detector una figura de difracción (figura 13), cuya energía de difracción sigue la ley de Airy. Esta imagen difractada consiste en una serie de anillos concéntricos oscuros y brillantes alternativos, alrededor de un área central brillante. La

intensidad de los anillos es proporcional al número de partículas detectadas por el rayo Láser y su forma dependerá de los diferentes tamaños de partículas existentes.

Mediante una serie de aproximaciones y ecuaciones matemáticas⁽⁵⁴⁾, se obtiene el cálculo de la distribución de tamaños de partícula a partir de las figuras de difracción obtenidas en el detector.

METODO

Se emplea la espectrometría de difracción por Rayos Láser. Los análisis se efectúan en fase líquida, utilizando como líquido no reactivo una disolución de ClH $3,4 \times 10^{-3}$ N. Previo al análisis granulométrico, la muestra se somete a la acción de los ultrasonidos durante 60 segundos, con el fin de desaglomerar las partículas. La concentración óptica es del 8,5 %. Se utiliza una lente de 500 mm.

Mediante la representación gráfica del porcentaje de producto en peso comprendido en cada intervalo de diámetros, frente al tamaño de las partículas (intervalo en micras), se obtiene el histograma que caracteriza la

distribución. El sistema nos proporciona también la curva de frecuencias correspondiente. De ambas formas se obtiene información sobre el modelo de distribución de frecuencias al que se ajustan los datos experimentales.

La representación gráfica del porcentaje acumulado, en peso, inferior al diámetro superior de cada intervalo, sobre una escala de probabilidades, frente al diámetro medio de cada intervalo, o su logaritmo, permite caracterizar la población a través de dos parámetros: el diámetro medio de la distribución en peso y la desviación típica. Si los datos experimentales obtenidos se ajustan a una distribución logaritmo-normal, lo cual ocurrirá cuando en la curva de frecuencias se aprecien colas⁽⁵⁵⁾, podremos obtener dos constantes: el diámetro medio geométrico (d_g), que es el tamaño que corresponde al 50 % en el eje de porcentaje acumulativo y la desviación típica geométrica (s_g), que es el cociente de la razón (tamaño 84,13 %)/(tamaño 50 %) o (tamaño 50 %)/(tamaño 15,87 %). Obviamente, para polvos o granulados destinados a la elaboración de comprimidos interesa una desviación típica geométrica muy pequeña, que equivale a un valor de pendiente de la recta muy alto. El mínimo valor posible para la s_g será de 1,0 cuando todas las partículas sean del mismo diámetro.

Si los datos experimentales siguen una distribución normal, obtendremos dos parámetros: el diámetro medio aritmético (d_a), que al igual que en la distribución logaritmo-normal es el tamaño que corresponde al 50 % en el eje de porcentaje acumulativo, y la desviación típica (s), que es la resultante de la diferencia (tamaño 84,13 %) - (tamaño 50 %) o (tamaño 50 %) - (tamaño 15,87 %).

Como parámetro representativo de la población se calcula el diámetro medio equivalente volumen/superficie (diámetro de la esfera que presenta una relación volumen/superficie igual a la que muestra la media de las partículas en estudio), mediante la expresión:

$$d_{v/s} = \frac{\sum_{i=1}^n n_i d_i^3}{\sum_{i=1}^n n_i d_i^2} \quad [5]$$

donde:

d_i : diámetro medio de cada fracción.

n_i : número de partículas de cada fracción.

$$n_i = \frac{6 \times P_i}{\pi \times d_i \times \Gamma} \quad [6]$$

siendo:

P_i : peso de cada fracción.

Γ : densidad real.

Si la distribución del tamaño de partículas obedece a una ley logaritmo-normal, el $d_{v/s}$ puede ser calculado a partir de la ecuación de Hatch-Choate:

$$\log d_{v/s} = \log d_g - 1,151 \log^2 s_g \quad [7]$$

El diámetro medio volumen/superficie, es un parámetro interesante por ser inversamente proporcional a la superficie específica, la cual se puede calcular a partir de la curva de distribución granulométrica (método indirecto).

Para ello se parte de dos premisas:

- 1.- Todas las partículas presentan la misma forma. En general se consideran partículas esféricas, por lo que el coeficiente de forma (relación entre la superficie y el volumen de las partículas) es $\alpha_m/\alpha_v = 6$.

- 2.- Las partículas de cada fracción tienen un mismo diámetro (d_i), igual al diámetro medio aritmético calculado a partir de la media de cada intervalo.

Hay dos procedimientos para el cálculo de la superficie específica:

- a) Sumando las superficies parciales correspondientes a cada fracción granulométrica:

$$S_i = \frac{\alpha_m \times P_i}{\alpha_v \times \Gamma \times d_i} \quad [8]$$

La superficie específica total será:

$$S_e = \frac{\sum S_i}{P_t} \quad [9]$$

Siendo P_t el peso total del polvo.

- b) A partir del diámetro medio volumen-superficie ($d_{v/s}$):

$$S_e = \frac{S_t}{P_t} = \frac{\alpha_m}{\alpha_v \times \Gamma \times d_{v/s}} \quad [10]$$

RESULTADOS Y COMENTARIOS

En la tabla XX están recogidos los resultados obtenidos en el estudio de tamaño de partícula para el Lobuprofeno. En dicha tabla están indicados los intervalos de tamaño en micras, el diámetro medio correspondiente a cada intervalo, el porcentaje de producto en peso para cada tamaño de partícula, el porcentaje acumulativo inferior al diámetro superior de cada intervalo y los probits correspondientes a dicho porcentaje. La mejor correlación probabilidad-tamaño se obtiene suponiendo una distribución normal.

A partir de estos resultados se obtienen las representaciones en forma distributiva (histograma y curva de frecuencias) y acumulada, así como la acumulada en escala de probabilidad, de las figuras 14 a 17.

En la tabla XXI se recogen los parámetros resultantes del análisis granulométrico. El 90 % del producto tiene un tamaño inferior a 243 μm . Las partículas de Lobuprofeno, en función de su tamaño, siguen una distribución unimodal, caracterizada por un valor de diámetro medio aritmético de 138,3 μm , con una desviación típica (s) de 55,9. El diámetro medio ($d_{v/s}$) es igual a 87,8 μm . La superficie

específica (S_e) es de 564,77 cm²/g y la superficie por unidad de volumen (S_v) es $6,83 \times 10^{-2}$ m²/cm³.

A	B	C	D	E	log B
0-4,5	2,50	0,43	0,43	2,3479	0,3979
4,5-6,5	5,50	0,11	0,54	2,4242	0,7404
6,5-9,0	7,75	0,09	0,63	2,4879	0,8893
9,0-11,0	10,00	0,07	0,70	2,5427	1,0000
11,0-13,0	12,00	0,08	0,78	2,5911	1,0792
13,0-15,5	14,25	0,13	0,91	2,6344	1,1538
15,5-18,5	17,00	0,22	1,13	2,7096	1,2304
18,5-21,5	20,00	0,29	1,42	2,8027	1,3010
21,5-25,0	23,25	0,42	1,84	2,9031	1,3664
25,0-30,0	27,50	0,74	2,58	3,0569	1,4393
30,0-37,5	33,75	1,43	4,01	3,2493	1,5283
37,5-45,0	41,25	1,79	5,80	3,4282	1,6154
45,0-52,5	48,75	2,14	7,94	3,5882	1,6879
52,5-62,5	57,50	3,34	11,28	3,7893	1,7597
62,5-75,0	68,75	4,94	16,22	4,0137	1,8373
75,0-90,0	82,50	6,96	23,18	4,2677	1,9164
90,0-105,0	97,50	7,83	31,01	4,5041	1,9890
105,0-125,0	115,00	11,12	42,13	4,8007	2,0607
125,0-150,0	137,50	13,73	55,86	5,1484	2,1383
150,0-180,0	165,00	14,60	70,46	5,5388	2,2175
180,0-215,0	197,50	12,93	83,39	5,9701	2,2956
215,0-255,0	235,00	9,24	92,64	6,4466	2,3711
255,0-305,0	280,00	5,50	98,14	7,0836	2,4471
305,0-365,0	335,00	1,86	100,00	8,7190	2,5250

Distribución normal: Probit = 0,01787 x d + 2,5287 (r = 0,9856)

Distribución log. normal: Probit = 2,6363 x log d - 0,2389 (r = 0,8999)

A = Intervalo (μm)

B = Diámetro medio (μm) = d

C = Distribución de frecuencias en peso (%) [Porcentaje de producto para cada tamaño de partícula]

D = Porcentaje acumulativo inferior al diámetro superior de cada intervalo (%)

E = Probits

Tabla XX. Estudio granulométrico del Lobuprofeno.

	LOBUPROFENO ($\Gamma = 1,28 \text{ g/ml}$)
d_a (μm)	138,29
S	55,88
$d_{v/s}$ (μm)	87,79
S_v (m^2/cm^3)	$6,83 \times 10^{-2}$
S_e (cm^2/g)	564,77

Tabla XXI. Parámetros determinados en el estudio granulométrico del Lobuprofeno.

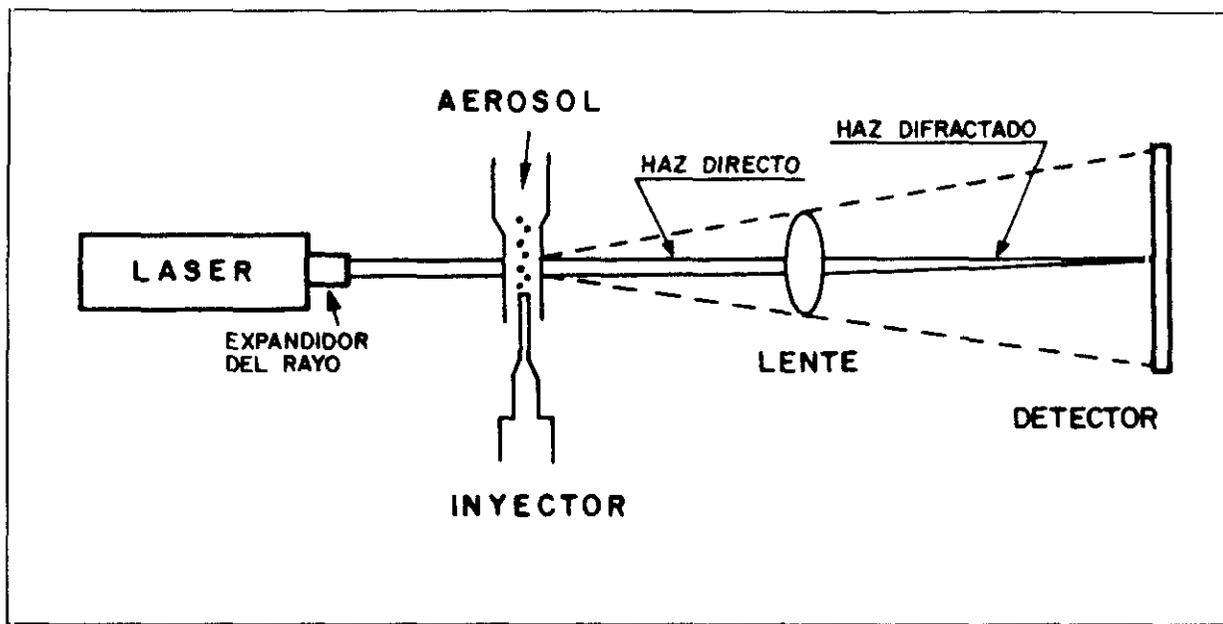


Figura 13. Esquema general del sistema para análisis granulométrico por espectrometría de difracción por Rayos Láser.

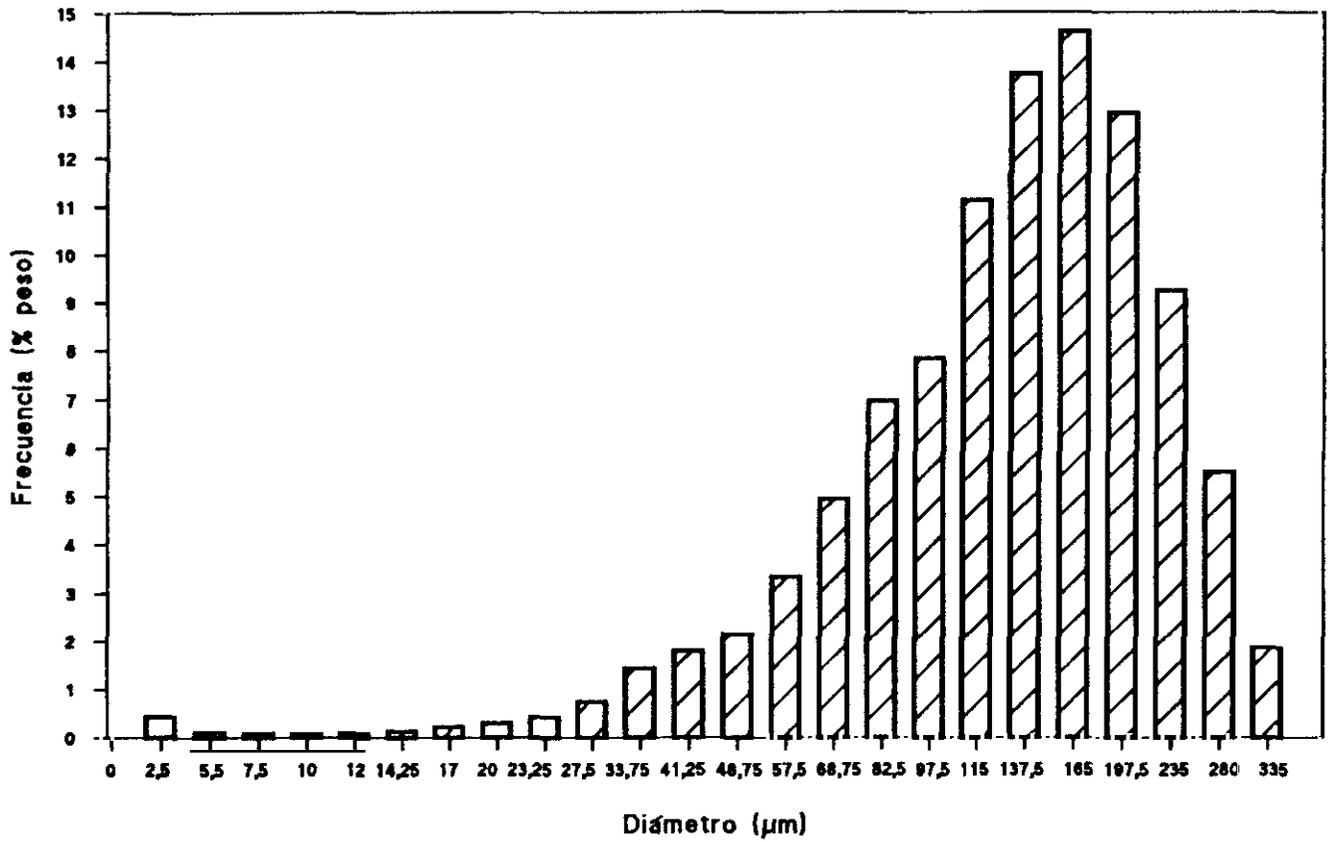


Figura 14. Histograma de la distribución granulométrica del Lobuprofeno.

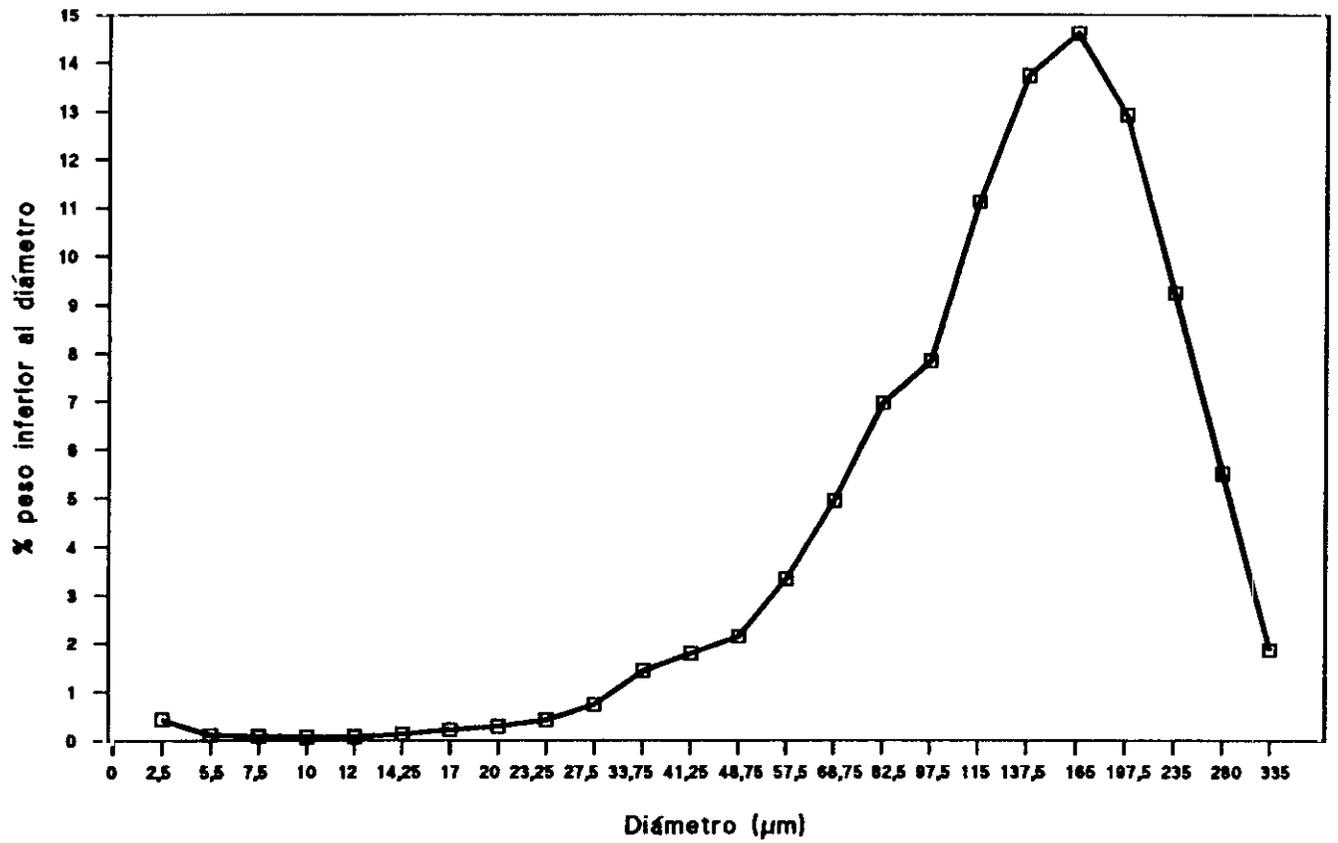


Figura 15. Granulometría del Lobuprofeno. Representación distributiva.

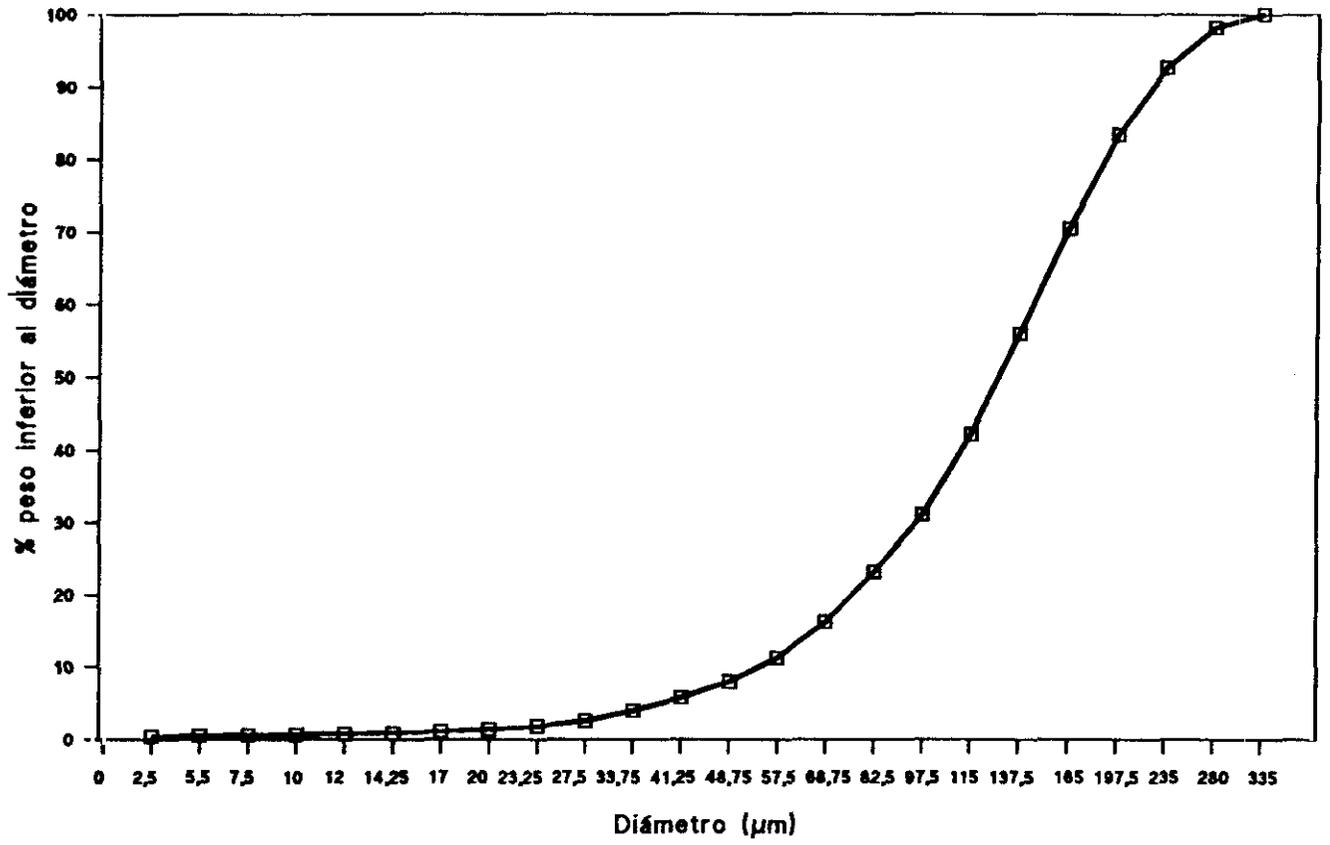


Figura 16. Granulometría del Lobuprofeno. Representación acumulativa.

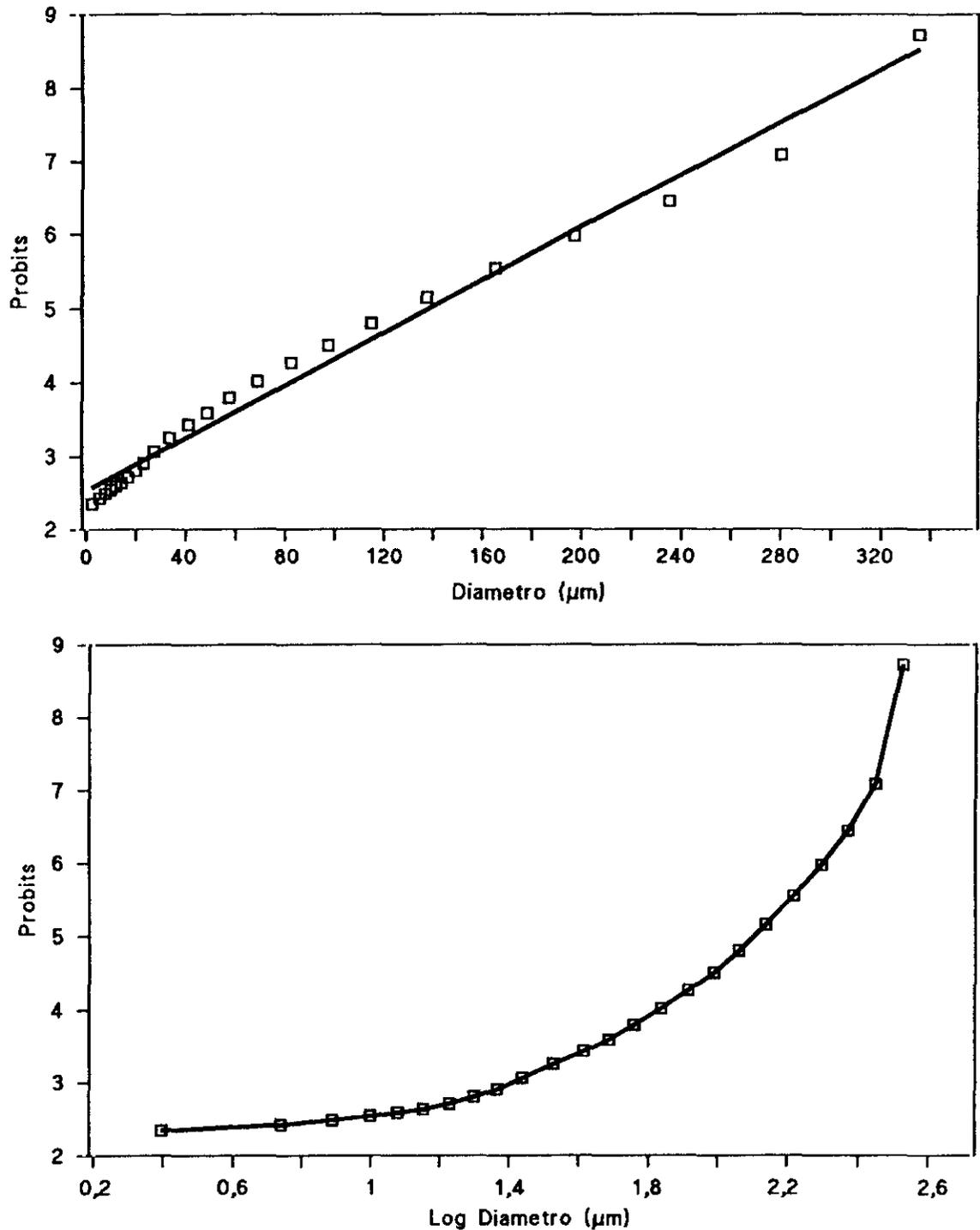


Figura 17. Granulometría del Lobuprofeno. Representación acumulativa en escala de probabilidades. Gráfica superior: distribución normal. Gráfica inferior: distribución logaritmo-normal.

3.1.A.2. SOLUBILIDAD

La solubilidad de una sustancia a una temperatura determinada, se define como la concentración de soluto en una disolución saturada (coeficiente de solubilidad, C_s). Existen muchas formas para expresar la solubilidad, así por ejemplo como porcentaje % (p/v), como molaridad, como molalidad, en forma de volumen de solvente requerido para disolver 1 gramo de soluto, En cuanto a los métodos para determinar la solubilidad de una sustancia medicamentosa, también hay numerosas descripciones en la bibliografía⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾.

3.1.A.2.1. Solubilidad en disolventes no acuosos

Con el fin de disponer de disolventes que permitan, en caso de ser necesario, llevar a cabo una separación del Lobuprofeno de sus hipotéticos productos de degradación, Ibuprofeno y Cloroalcanol, se estudia la solubilidad de estas tres moléculas en algunos de los disolventes más empleados en la práctica analítica.

Asimismo, se estudia la solubilidad del Lobuprofeno en disolventes no acuosos de uso común en procesos de

granulación y recubrimiento y en disolventes empleados como cosolventes en la preparación de formas inyectables.

METODO

Sobre un volumen constante de disolvente se añade la cantidad necesaria de soluto para obtener una disolución saturada. Se mantiene el sistema con agitación a 25 °C durante el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio, lo cual se comprueba analizando periódicamente muestras del sobrenadante hasta obtener un valor constante de concentración por espectrofotometría UV a 246 nm, empleando como blanco el mismo disolvente. Se utilizan cubetas de 1 cm de paso óptico.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

En la tabla XXII quedan recogidos los valores del coeficiente de solubilidad del Lobuprofeno, expresado en % (p/v). En la tabla XXIII se presentan los valores de solubilidad obtenidos para el Ibuprofeno y Cloroalcanol en una selección de los disolventes empleados para el Lobuprofeno. A la vista de los resultados se podría

plantear una separación de una mezcla ternaria de las tres moléculas, por ejemplo, con una primera extracción con cloroformo en la que se separarían el Lobuprofeno e Ibuprofeno del Cloroalcanol y una posterior separación de los dos primeros con otro disolvente, como puede ser el acetato de etilo, éter etílico o benceno.

Desde el punto de vista de la formulación de formas inyectables, sería posible emplear como cosolventes el etanol o el glicerinfomal, no obstante, habría que considerar la limitación en el uso de estos disolventes para la vía intravenosa.

El empleo de cloruro de metileno como solvente de granulación podría ocasionar problemas de emigración del Lobuprofeno hacia la superficie de los gránulos, debido a su elevada solubilidad en este medio.

3.1.A.2.2. Relación solubilidad-constante dieléctrica

La solubilidad de un sólido está directamente relacionada con la polaridad del disolvente, a menudo expresada en términos de momento dipolar, que a su vez está relacionado con la constante dieléctrica.

Así pues, los compuestos iónicos se disolverán más fácilmente en disolventes polares a los que corresponden valores altos de constante dieléctrica, mientras que los compuestos no iónicos se disolverán más fácilmente en disolventes apolares o de bajo valor de constante dieléctrica.

METODO

Con el fin de obtener medios de disolución con distintos valores de constante dieléctrica (ϵ) se preparan mezclas de dioxano-agua en las concentraciones expresadas en la tabla XXIV. No se estudian medios de disolución con valores de constante dieléctrica superiores a 22, ya que dada la elevada lipofilia de la molécula, no es previsible encontrar una mayor solubilidad en medios polares.

Se obtienen disoluciones saturadas de Lobuprofeno, añadiendo 5 gramos en 10 mililitros de cada una de las mezclas dioxano-agua, y se dejan estabilizar a 25 °C con agitación hasta concentración constante, determinada por espectrofotometría UV: las muestras se centrifugan, se realiza una dilución del sobrenadante 1/10.000 con metanol y se leen a 250 nm frente a un blanco de metanol.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los resultados obtenidos se expresan en la tabla XXIV, figura 18, a la vista de los cuales se prevé una máxima disolución del Lobuprofeno para valores de ϵ comprendidos entre 12 y 14, lo que nos indica el carácter poco polar de la molécula en estudio.

3.1.A.2.3. Relación solubilidad-pH⁽⁵⁹⁻⁶¹⁾.

Las solubilidades de los compuestos con carácter ácido o básico son pH-dependientes y pueden ser alteradas mediante la formación de sales.

La solubilidad de la sal de un ácido fuerte estará menos afectada por cambios en el valor del pH que la solubilidad de la sal de un ácido débil. A valores bajos de pH, la sal se hidroliza, dependiendo del pKa del ácido débil, de forma que revierte parcialmente hacia la forma no ionizada (protonada) del ácido. De este modo, se obtiene una disminución de la solubilidad. De igual forma, a valores altos de pH, disminuye la solubilidad de las sales de bases débiles, como es el caso del Lobuprofeno.

El estudio de la solubilidad en función del pH es también interesante para sustancias medicamentosas que vayan a ser administradas por vía oral, dada la relación existente entre solubilidad y velocidad de disolución, así como la de ésta, salvo casos excepcionales, con la absorción en el tracto gastrointestinal.

METODO

Se utilizan 7 disolventes, 6 de ellos de pH 1,2; 2; 3; 4; 5 y 6 unidades preparados tal y como se indica en la tabla XXV. El séptimo es agua destilada (pH = 5,96).

En 100 ml de cada disolvente, se añaden alrededor de 50 mg de Lobuprofeno, y se reajusta el pH, si fuera necesario, al original de la solución reguladora, a excepción del caso del agua que se deja al pH de la solución saturada de Lobuprofeno, que resulta ser de 2,8. Se agita, manteniendo una temperatura constante de 25 °C, hasta que no se observan variaciones en la concentración, determinada por cromatografía de líquidos de alta resolución, siguiendo el método descrito en el apartado correspondiente al análisis cuantitativo del Lobuprofeno por RP-HPLC.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

En la tabla XXVI están recogidos los valores de los coeficientes de solubilidad a los distintos pH, expresados en mg/ml. En la misma tabla se puede apreciar cómo los coeficientes de variación van aumentando a medida que disminuye la solubilidad y los valores de ésta se van acercando al límite de cuantificación, para el método analítico empleado, que está establecido en 1,87 mg/l, cuando se inyectan 3 μ l.

La figura 19 muestra la representación gráfica de estos valores.

Los bajos valores de hidrosolubilidad del Lobuprofeno (inferiores al 0,3 % p/v) a todos los pH estudiados hacen suponer que la disolución puede ser un factor limitante de la absorción oral del medicamento.

3.1.A.2.4. Influencia de agentes solubilizantes⁽⁶²⁻⁶⁷⁾.

Con el fin de aumentar la solubilidad de algunas sustancias medicamentosas, se puede recurrir a otras técnicas además de a la formación de sales: diseño de profármacos, formación de complejos, así como al empleo de

agentes solubilizantes como la adición de cosolventes y el uso de agentes tensoactivos. Estos, por su capacidad de formar asociaciones micelares y por su elevado poder humectante, pueden originar disoluciones coloidales.

Para la realización del presente trabajo se elige como co-solvente el polietilenglicol (PEG 6000), como tensoactivos el laurilsulfato sódico (aniónico) y el Tween 80 (no iónico) y como solubilizante e inhibidor de la cristalización, la polivinilpirrolidona (KOLLIDON K-25).

METODO

Se emplean mezclas del Lobuprofeno con el agente solubilizante, en las porciones indicadas en la tabla XXVII.

Sobre 65 ml de agua, se añade la cantidad de cada mezcla equivalente a 50 mg de Lobuprofeno, y se mantiene con fuerte agitación a temperatura de 25 °C hasta concentración constante, determinada por cromatografía de líquidos de alta resolución, siguiendo el método descrito en el epígrafe correspondiente al análisis cuantitativo del Lobuprofeno por RP-HPLC.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los valores de coeficientes de solubilidad (C_s), expresados en mg/ml, están recogidos en la tabla XXVII. La figura 20 muestra la representación gráfica de estos valores. Con el empleo de PEG 6000 y Kollidon K-25 se aprecia un ligero aumento de los valores de C_s desde 0,138 mg/ml, valor que correspondía a la solubilidad del Lobuprofeno en agua, hasta valores comprendidos entre 0,150 - 0,160 mg/ml, pero sin que pueda observarse una relación entre este aumento de la solubilidad y la concentración de agente solubilizante empleado. En el caso del Laurilsulfato sódico se observa una disminución de la solubilidad del Lobuprofeno hasta niveles no detectables a la concentración más alta de tensoactivo añadida.

Con el Tween 80, sin embargo, se observa un aumento de solubilidad al incrementar la concentración del mismo.

No obstante, aún en los casos más favorables, la solubilidad del Lobuprofeno es muy baja (inferior a 0,025 %), lo que nos hace prever serias dificultades para el planteamiento de formulación de formas líquidas en solución, tanto para uso oral, como tópico o por vía parenteral.

Disolvente	C _s [% (p/v)]
Cloroformo	35
Cloruro de metileno	23
Metanol	13
Isopropanol	12,5
Etanol	10
Glicerinformal	8
Acetonitrilo	2-3,8
Acetona	1,8
n-Hexano	<0,8
Acetato etilo	<0,5
Eter etílico	<0,4
Benceno	<0,3

Tabla XXII. Coeficientes de solubilidad del Lobuprofeno en disolventes no acuosos a 25 °C.

Disolvente	C _s Ibuprofeno % (p/v)	C _s Cloroalcanol % (p/v)
Cloroformo	> 50	2
Metanol	33,3	5
n-Hexano	2,5	<0,4
Acetato etilo	33,3	2,5
Eter etílico	25	<0,3
Benceno	25	0,3

Tabla XXIII. Coeficientes de solubilidad del Ibuprofeno y Cloroalcanol en disolventes no acuosos a 25 °C.

% Dioxano	ϵ	C_s [% (p/v)]
92,41	8	16,8
89,79	10	21,9
87,17	12	24,8
84,55	14	25,1
81,93	16	24,2
79,31	18	24,4
76,69	20	22,3
74,07	22	21,2

Tabla XXIV. Coeficientes de solubilidad de Lobuprofeno a 25 °C en función del valor de las constantes dieléctricas del medio, en distintas mezclas dioxano-agua.

pH	A (ml)	B (ml)	C (ml)	D (ml)
1,2	---	1000	---	---
2	302	698	---	---
3	399	601	---	---
4	551	449	---	---
5	1000	---	---	---
6	603	---	397	---
7,4	---	---	---	1000

Solución A: Citrato disódico 0,1 N (por litro, 21,01 g de ácido cítrico monohidrato y 200 ml de NaOH 1 N)

Solución B: ClH 0,1 N

Solución C: NaOH 0,1 N

Solución D: $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ 6,8 g por litro; NaOH 0,1 N c.s.p. pH = 7,4

Tabla XXV. Soluciones reguladoras del pH.

pH	C _s (mg/ml)	n	s	cv %
1,2	0,1400	3	0,000868	0,62
2	0,1772	3	0,00624	3,52
3	0,1000	3	0,00500	5,00
4	0,0254	3	0,00315	12,40
5	0,0067	3	0,00115	17,32
6	0,0041	3	0,00164	40,07
7,4	0,0030	3	0,00156	52,07
H ₂ O	0,1383	4	0,002301	1,66

Tabla XXVI. Coeficiente de solubilidad del Lobuprofeno a distintos pH y 25 °C.

	COMPOSICION DE LA MEZCLA (P/P)	C _s (mg/ml)
LOBUPROFENO/PEG 6000	500/20 500/200	0,158 0,159
LOBUPROFENO/TWEEN 80	500/20 500/50 500/100 500/200 500/500	0,159 0,158 0,181 0,196 0,209
LOBUPROFENO/LAURILSULFATO SODICO	500/20 500/40 500/100 500/200 500/500	0,111 0,086 0,035 0,0035 --
LOBUPROFENO/PVP	500/40 500/100	0,151 0,160

Tabla XXVII. Coeficiente de solubilidad del Lobuprofeno a 25 °C, en presencia de agentes solubilizantes.

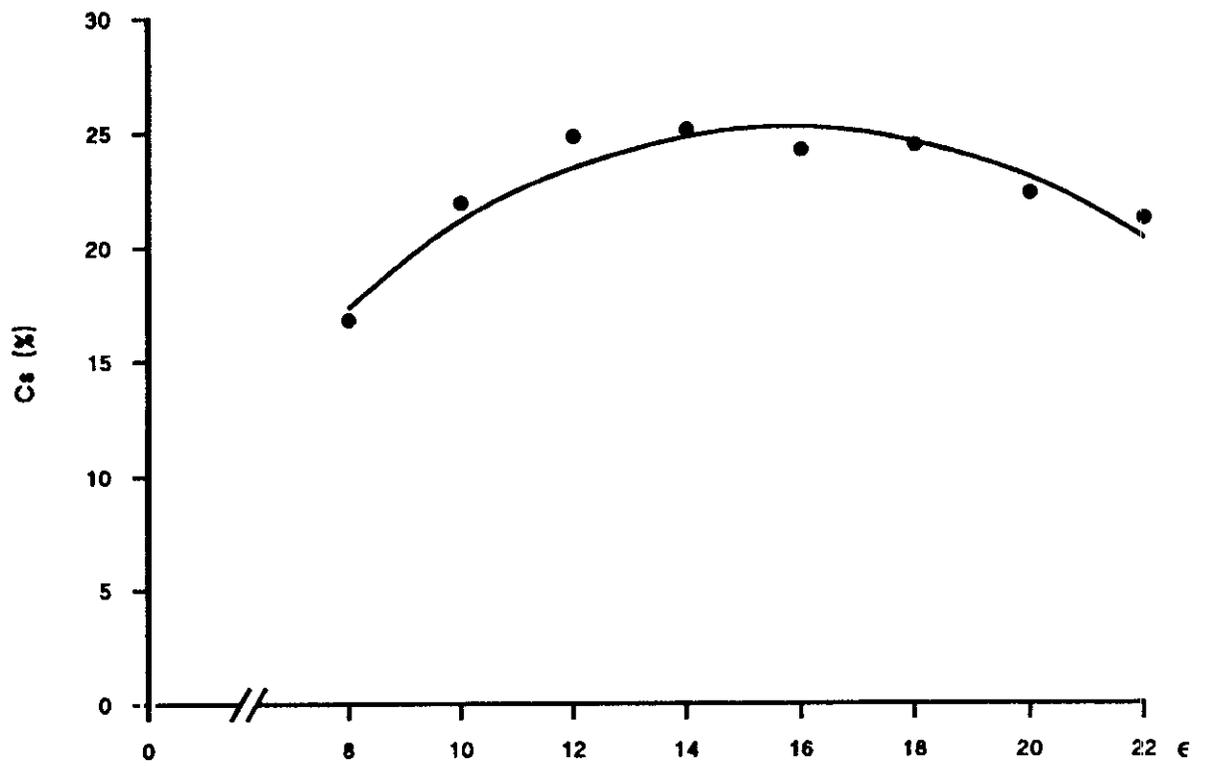


Figura 18. Curva de solubilidad- ϵ del Lobuprofeno.

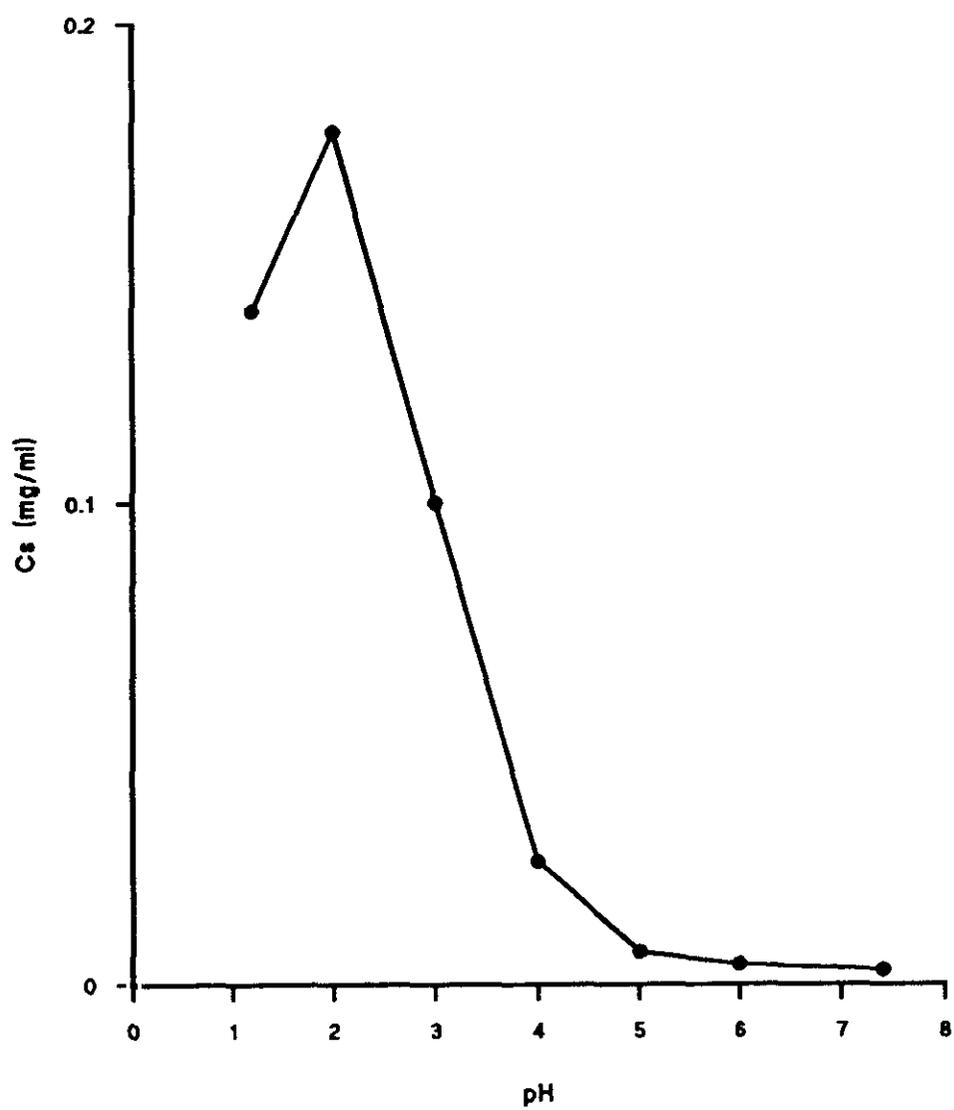


Figura 19. Curva de solubilidad-pH del Lobuprofeno.

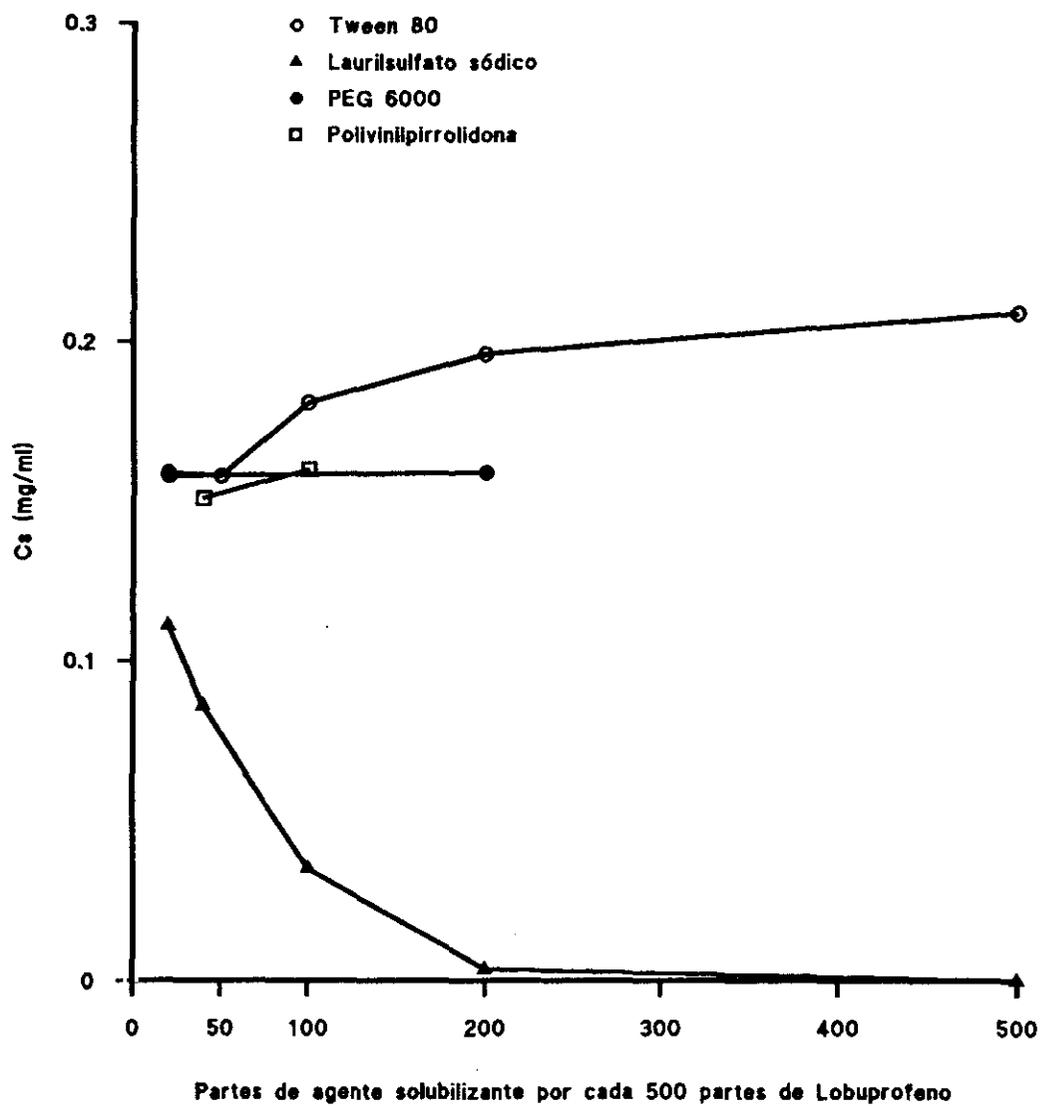


Figura 20. Curvas de solubilidad del Lobuprofeno en presencia de agentes solubilizantes.

3.1.A.3. VELOCIDAD DE DISOLUCION

La velocidad de disolución de una sustancia (dc/dt) se expresa, de forma general, por medio de la ecuación de Noyes-Whitney [11], que indica que la velocidad de disolución es función del área superficial del sólido (S), siempre que se trabaje en condiciones "sink" ($C_s \gg C$), siendo C_s el coeficiente de solubilidad y C la concentración del soluto en el medio de disolución.

$$\frac{dC}{dt} = - K \times S \quad [11]$$

En la cinética de disolución se obtienen modelos de orden 0 cuando durante el ensayo la superficie del sólido se mantiene constante. No obstante, normalmente, la superficie varía durante la disolución, por lo que la cinética del proceso dependerá de las características del sólido.

La diversidad de curvas obtenidas experimentalmente, exponenciales (orden 1), lineales (orden cero) y sigmoideas, hacen realmente difícil la comparación de los resultados de disolución y la interpretación eventual en

términos de mecanismo. Por ello se propuso en una serie de modelos matemáticos^(68,69,70) la linealización de los datos experimentales (Wagner, Hixson y Crowell, Higuchi, Weibull).

- a) Linealización según Wagner. Cinética exponencial o de primer orden.

Supone que la superficie del sólido varía con el tiempo en función de la cantidad de fármaco remanente.

$$Q = Q_m (1 - e^{-k_d(t-t_0)}) \quad [12]$$

donde:

Q_m = cantidad total disuelta.

Q = cantidad disuelta a los distintos tiempos (t).

K_d = constante de velocidad de disolución de primer orden.

t_0 = período de latencia

- b) Linealización según Hixson y Crowell.

Según la cual, la variación de la superficie es función directa de la raíz cúbica del cuadrado del volumen del sólido:

$$\sqrt[3]{Q_m} - \sqrt[3]{Q_m - Q} = K_d(t - t_0) \quad [13]$$

c) Linealización según Higuchi.

Se aplica a matrices hidrófilas y a esferoides. La ley de Higuchi se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$Q_s = \sqrt{D\epsilon(2A - \epsilon C_s)C_s t/\tau} \quad [14]$$

donde:

Q_s = cantidad de principio activo liberada, por unidad de superficie expuesta, en el tiempo t .

D = coeficiente de difusión del principio activo en el medio de disolución.

A = cantidad de principio activo contenido en la matriz, por unidad de volumen.

C_s = solubilidad del principio activo en el medio de disolución.

ϵ = porosidad de la matriz

τ = tortuosidad de la matriz

d) Linealización según Weibull.

La función de distribución de Rosin, Ramler, Sperling, Bennett y Weibull (RRSBW), permite la descripción de la mayor parte de las curvas de disolución obtenidas experimentalmente, y proporciona de forma

inmediata una idea muy concreta de la cinética del proceso.

Se expresa mediante la siguiente ecuación matemática:

$$Q = Q_m (1 - e^{-[(t-t_0)/t_d]^b}) \quad [15]$$

Cuya expresión logarítmica es:

$$\underbrace{\log \left[-\ln \left(1 - \frac{Q}{Q_m} \right) \right]}_y = \underbrace{b \log(t-t_0)}_{= b x} - \underbrace{b \log t_d}_a \quad [16]$$

siendo:

b = parámetro de RRSBW, cuyo valor absoluto depende de la evolución de la cinética de disolución. Si es próximo a cero, la cinética aparente del proceso es cero; si es cercano a 1, la cinética es de primer orden aparente; si es mayor de 1, la cinética es de orden superior y la curva es sigmoidea, presentando un punto de inflexión; y si alcanza valores intermedios, la cinética es combinada.

Se han descrito numerosos equipos para determinar la velocidad de disolución de los fármacos en formas farma-

céuticas sólidas o como producto puro⁽⁷¹⁻⁷³⁾. Estos sistemas se pueden clasificar en estáticos y de flujo continuo, existiendo una gran variedad de posibilidades intermedias.

3.1.A.3.1. Velocidad de disolución a diferentes valores de pH⁽⁷⁴⁾

Sería interesante estudiar la velocidad de disolución en función del pH en todo el rango de valores del mismo que cubre el tracto gastrointestinal; no obstante, dada la baja solubilidad del Lobuprofeno a partir de pH 4, no ha sido posible realizar este estudio completo por no disponer de un método analítico con suficiente sensibilidad como para detectar cambios significativos en la concentración. Por ello, nos hemos limitado a estudiar la velocidad de disolución a pH 1'2, 2 y 3.

METODO

Se emplea el método de la USP XXII, aparato 2, 200 r.p.m., empleando como medio de disolución 1000 ml de soluciones reguladoras de pH indicadas en la tabla XXV y a una temperatura de 37 °C. Se selecciona una fracción de

Lobuprofeno cuyo diámetro está comprendido entre 150 y 177 μm . Se trabaja en condiciones SINK, $Q_{\text{máx}} = 10 \text{ mg}$. Las muestras (5 ml) que se recogen cada período de tiempo preestablecido, son filtradas por 0,45 μm y leída su absorbancia por espectrofotometría UV a $\lambda = 254 \text{ nm}$ frente a un blanco de disolvente. Después de cada toma de muestra se repone el volumen extraído. Se calculan las concentraciones frente a un patrón preparado en las mismas condiciones.

Se calcula la cantidad disuelta corregida mediante la expresión:

$$Q_t = 1000 A_t + 5 \sum_0^{t-1} A_i \quad [17]$$

$Q_t = \text{mg disueltos corregidos al tiempo } t$

$A_t = \text{mg disueltos al tiempo } t$

Con el fin de conocer a qué modelo teórico se ajustan mejor los datos experimentales obtenidos a los distintos pH, se hace uso de la ecuación de Weibull, que proporciona de forma inmediata una idea muy concreta de la cinética del proceso, según la cual se determina la ecuación de la curva representativa del mismo y la constante de velocidad.

Para agilizar el cálculo matemático se emplea un programa de ordenador, diseñado en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la U.C.M. (Anexo I).

RESULTADOS Y COMENTARIOS

En las tablas XXVIII a XXX están recogidos, para cada pH, los valores de la cantidad de principio activo disuelta corregida, a los diferentes tiempos de extracción de las muestras. A partir de estas cantidades disueltas y mediante la ecuación de Weibull [16], se calculan los valores de "b" para cada pH y los coeficientes de correlación (r) correspondientes a este ajuste, cuyos resultados se encuentran en la tabla XXXI. Al ser los valores de "b" próximos a la unidad, se supone una cinética aparente del proceso de primer orden. Los parámetros de disolución calculados mediante el ajuste de orden 1 se encuentran en la tabla XXXII. Los valores medios estimados de la cantidad disuelta acumulada de principio activo, siguiendo el modelo de orden 1, se encuentran recogidos en la tabla XXXIII, correspondiendo su representación gráfica a la figura 21.

Se observa al pH de 2 un valor de constante de velocidad de disolución estadísticamente superior a las correspondientes a los pH de 1,2 y 3 (tabla XXXII). Este hecho está de acuerdo con lo constatado al realizar el estudio de solubilidad del principio activo, en el que se obtuvieron valores menores para los coeficientes de solubilidad a los pH 1,2 y 3 que a pH 2. No obstante, se selecciona para posteriores determinaciones de velocidad de disolución la solución de pH = 1,2 por ser, junto con la de tampón pH = 7,4 la de uso más corriente en los análisis incluidos en las Farmacopeas Europea, Británica y Americana.

3.1.A.3.2. Velocidad de disolución en función del tamaño de partícula⁽⁷⁵⁾

Normalmente, una disminución en el tamaño de partícula del sólido conlleva un aumento en la velocidad de disolución, salvo que se produzcan agregados o existan problemas en la humectación del sólido.

METODO

El estudio de la influencia del tamaño de partícula se realiza sobre 3 fracciones de Lobuprofeno, separadas por tamización.

Fracción 1: Inferiores a 50 μm . Diámetro medio: 25 μm .

Fracción 2: 150-177 μm . Diámetro medio: 163,5 μm .

Fracción 3: 315-400 μm . Diámetro medio: 357,5 μm .

Se emplea el mismo método que el indicado en el estudio de velocidad de disolución-pH. El líquido de ataque es la solución de pH = 1,2.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los valores medios de las cantidades acumuladas disueltas corregidas (mg), se encuentran recogidos en las tablas XXXIV, XXXV y XXXVI. En la tabla XXXVIII figuran los valores del parámetro b y los coeficientes de correlación correspondientes al ajuste de Weibull. Al ser los valores de "b" próximos a la unidad, se supone una cinética aparente de disolución de primer orden, según la cual se obtienen los parámetros de disolución que se

encuentran en la tabla XXXIX. Las cantidades disueltas estimadas (%) hasta 90 min, con este modelo, están recogidas en la tabla XXXVII y su representación gráfica se encuentra en la figura 22.

Se observa, tal y como estaba previsto, una clara disminución en los valores de la constante de velocidad al aumentar el tamaño medio de partícula, de tal forma que con la fracción de tamaño inferior a $50 \mu\text{m}$ de diámetro se consigue la disolución del 95 % de la muestra en 15 min, lo que se consigue en tiempos muy superiores, 135 y 270 min, para las fracciones de tamaños comprendidas entre $150\text{-}177 \mu\text{m}$ y $315\text{-}400 \mu\text{m}$ respectivamente.

t (min)	Cantidad disuelta corregida (mg)			
	ENSAYO N° 1	ENSAYO N° 2	ENSAYO N° 3	ENSAYO N° 4
2	-	-	1,036	0,258
4	0,774	0,435	-	0,623
6	0,918	0,910	1,189	0,961
8	1,082	1,157	1,713	1,463
10	1,606	1,611	1,721	1,980
12	1,716	1,925	1,941	2,332
15	2,536	2,216	2,723	2,685
20	2,618	2,796	3,139	3,463
25	2,848	3,283	3,333	3,890
30	4,186	3,618	5,433	4,351
45	4,972	5,617	6,157	7,334
60	5,866	7,089	6,813	6,893
75	6,840	6,411	-	7,084
90	7,999	6,989	6,604	8,663
105	8,434	8,538	7,038	9,572
120	8,827	9,251	8,204	-
135	9,061	9,308	8,813	-
150	-	-	9,398	-

Tabla XXVIII. Disolución del Lobuprofeno a pH = 1,2.

t (min)	Cantidad disuelta corregida (mg)		
	ENSAYO N° 1	ENSAYO N° 2	ENSAYO N° 3
4	-	-	0,392
6	-	-	0,774
8	1,556	0,602	0,883
10	-	0,844	1,138
12	1,768	0,998	1,307
15	1,896	1,732	2,009
20	2,815	2,324	3,876
25	2,986	3,233	4,438
30	4,702	3,707	4,793
45	6,452	5,572	5,220
60	6,747	6,898	7,114
75	7,828	7,767	7,605
90	9,059	-	8,756
105	-	9,004	-
120	9,902	9,776	8,923
150	-	-	9,469

Tabla XXIX. Disolución del Lobuprofeno a pH = 2.

t (min)	Cantidad disuelta corregida (mg)		
	ENSAYO N° 1	ENSAYO N° 2	ENSAYO N° 3
15	0,525	-	1,013
20	1,172	1,572	1,369
25	1,793	1,996	2,008
30	2,354	1,771	2,726
45	3,502	2,998	3,868
60	5,126	4,461	6,006
75	6,064	5,014	7,721
90	7,103	5,811	8,659
105	7,362	6,439	8,950
120	8,125	6,930	9,536
135	8,511	7,399	-
150	8,708	7,526	-
165	-	7,747	-

Tabla XXX. Disolución del Lobuprofeno a pH = 3.

pH	ENSAYO N° 1		ENSAYO N° 2		ENSAYO N° 3		ENSAYO N° 4	
	b	r	b	r	b	r	b	r
1,2	0,9690	0,9955	1,0294	0,9927	0,7728	0,9715	1,0653	0,9922
2	1,1570	0,9855	1,4306	0,9969	1,2253	0,9906	-	-
3	1,4587	0,9895	1,2037	0,9936	1,5064	0,9971	-	-

Tabla XXXI. Disolución del Lobuprofeno en función del pH. Parámetros de la ecuación de Weibull.

pH	ENSAYO N° 1		ENSAYO N° 2		ENSAYO N° 3		ENSAYO N° 4		$\bar{k}(\text{min}^{-1})$	CV(%)
	$K(\text{min}^{-1})$	r	$K(\text{min}^{-1})$	r	$K(\text{min}^{-1})$	r	$K(\text{min}^{-1})$	r		
1,2	0,01506	0,9973	0,01542	0,9841	0,01548	0,9617	0,01838	0,9772	0,01608	9,58
2	0,02650	0,9809	0,02779	0,9736	0,02380	0,9916	-	-	0,02603	7,82
3	0,01391	0,9981	0,01417	0,9972	0,01831	0,9943	-	-	0,01546	15,97
Ecuación de orden 1; pH = 1,2; $Q = 10,47 (1 - e^{-0,01608t})$ Ecuación de orden 1; pH = 2; $Q = 10,01 (1 - e^{-0,02603t})$ Ecuación de orden 1; pH = 3; $Q = 10,07 (1 - e^{-0,01546t})$									ANOVA F = 27,84 P < 0,001 HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS	

Tabla XXXII. Parámetros de disolución del Lobuprofeno en función del pH, según una cinética exponencial o de primer orden. Análisis de la varianza sobre los valores de K a distintos pH.

	pH = 1,2	pH = 2	pH = 3
t (min)	Valor medio de Q estimado (%)	Valor medio de Q estimado (%)	Valor medio de Q estimado (%)
2	3,36	-	-
4	6,63	8,12	-
6	9,79	11,90	-
8	12,87	19,70	-
10	15,86	23,35	-
12	18,76	28,11	-
15	22,95	33,85	26,30
20	29,54	42,48	30,17
25	35,66	50,04	36,34
30	41,36	56,67	42,03
45	56,13	72,07	56,62
60	67,96	82,46	68,15
75	77,45	89,48	77,24
90	85,07	92,60	84,43
105	91,17	95,29	90,13
120	96,07	99,60	94,63
135	100,00	-	97,92
150	-	-	99,69

Tabla XXXIII. Cantidad media disuelta estimada de Lobuprofeno a los distintos pH, suponiendo una cinética de orden 1.

t (min)	Valor medio de Q corregido (mg)	Valor medio de Q estimado (mg)
1	1,082	1,098
2	3,432	2,058
3	5,215	2,898
4	5,419	3,632
5	6,655	4,275
6	6,896	4,837
8	7,358	5,759
10	7,994	6,465
12	8,870	7,005
15	9,185	7,587

Tabla XXXIV. Disolución del Lobuprofeno en función del tamaño de partícula. Fracción inferior a 50 μm .

t (min)	Valor medio de Q corregido (mg)	Valor medio de Q estimado (mg)
2	0,258	0,292
4	0,610	0,576
6	0,929	0,851
8	1,354	1,118
10	1,729	1,378
12	1,978	1,630
15	2,540	1,994
20	3,004	2,567
25	3,338	3,099
30	4,397	3,594
45	6,020	4,877
60	6,665	5,905
75	6,747	6,730
90	7,564	7,392
105	8,395	7,922
120	8,761	8,348
135	9,061	8,689

Tabla XXXV. Disolución del Lobuprofeno en función del tamaño de partícula. Fracción comprendida entre 150-177 μm .

t (min)	Valor medio de Q corregido (mg)	Valor medio de W estimado (mg)
10	1,050	0,683
15	1,958	1,006
30	2,057	1,908
45	2,815	2,718
60	3,799	3,444
75	4,384	4,096
90	4,879	4,680
105	5,498	5,205
120	5,868	5,675
135	6,611	6,097
150	6,917	6,476
165	7,380	6,816
195	8,114	7,395
210	7,910	7,640
225	8,010	7,860
240	8,114	8,058
255	8,709	8,235
270	8,848	8,394

Tabla XXXVI. Disolución del Lobuprofeno en función del tamaño de partícula. Fracción comprendida entre 315-400 μm .

t (min)	Fracción inferior a 50 μm	Fracción comprendida entre 150-177 μm	Fracción comprendida entre 315-400 μm
	Valor medio de q estimado (%)	Valor medio de q estimado (%)	Valor medio de q estimado (%)
1	19,60	-	-
2	35,79	2,78	-
3	50,50	-	-
4	55,79	5,49	-
5	64,44	-	-
6	69,80	8,12	-
7	74,98	-	-
8	76,78	10,68	-
9	82,02	-	-
10	83,25	13,16	6,72
12	88,46	15,56	-
15	94,25	19,04	9,90
20	98,31	24,52	-
25	98,73	29,60	-
30	101,26	34,32	18,80
45	101,60	46,57	26,77
60	101,20	56,40	33,93
75	101,77	64,28	40,35
90	100,00	70,60	46,11

Tabla XXXVII. Disolución del Lobuprofeno. Cantidades disueltas estimadas (%), hasta 90 min, para las 3 fracciones de distintas granulometrías estudiadas.

Fracción	ENSAYO N° 1		ENSAYO N° 2		ENSAYO N° 3		ENSAYO N° 4	
	b	r	b	r	b	r	b	r
Inferior a 50 μm	1,0261	0,9976	0,8536	0,9858	0,9022	0,9769	-	-
150-177 μm	0,9690	0,9955	1,0294	0,9927	0,7728	0,9715	1,0653	0,9922
315-400 μm	0,8268	0,9757	0,9149	0,9937	0,8689	0,9891	-	-

Tabla XXXVIII. Disolución del Lobuprofeno en función del tamaño de partícula. Parámetros de la ecuación de Weibull.

Fracción	ENSAYO N° 1		ENSAYO N° 2		ENSAYO N° 3		ENSAYO N° 4		$\bar{K}(\text{min}^{-1})$	CV(%)
	$K(\text{min}^{-1})$	r	$K(\text{min}^{-1})$	r	$K(\text{min}^{-1})$	r	$K(\text{min}^{-1})$	r		
Inferior a 50 μm	$15,65 \times 10^{-2}$	0,9940	$15,06 \times 10^{-2}$	0,9701	$14,12 \times 10^{-2}$	0,9827	-	-	$14,94 \times 10^{-2}$	5,16
150-177 μm	$15,06 \times 10^{-3}$	0,9973	$15,42 \times 10^{-3}$	0,9841	$15,48 \times 10^{-3}$	0,9617	$18,38 \times 10^{-3}$	0,9772	$16,08 \times 10^{-3}$	9,58
315-400 μm	$72,55 \times 10^{-4}$	0,9868	$78,14 \times 10^{-4}$	0,9908	$72,34 \times 10^{-4}$	0,9929	-	-	$74,34 \times 10^{-4}$	4,42
<p>Ecuación de orden 1; Fracción inferior a 50 μm; $q = 10,19 (1 - e^{-0,1494t})$</p> <p>Ecuación de orden 1; 150-177 μm; $q = 10,47 (1 - e^{-0,01608t})$</p> <p>Ecuación de orden 1; 315-400 μm; $q = 10,12 (1 - e^{-0,007434t})$</p>										

Tabla XXXIX. Parámetros de disolución del Lobuprofeno en función del tamaño de partícula, según una cinética exponencial o de primer orden.

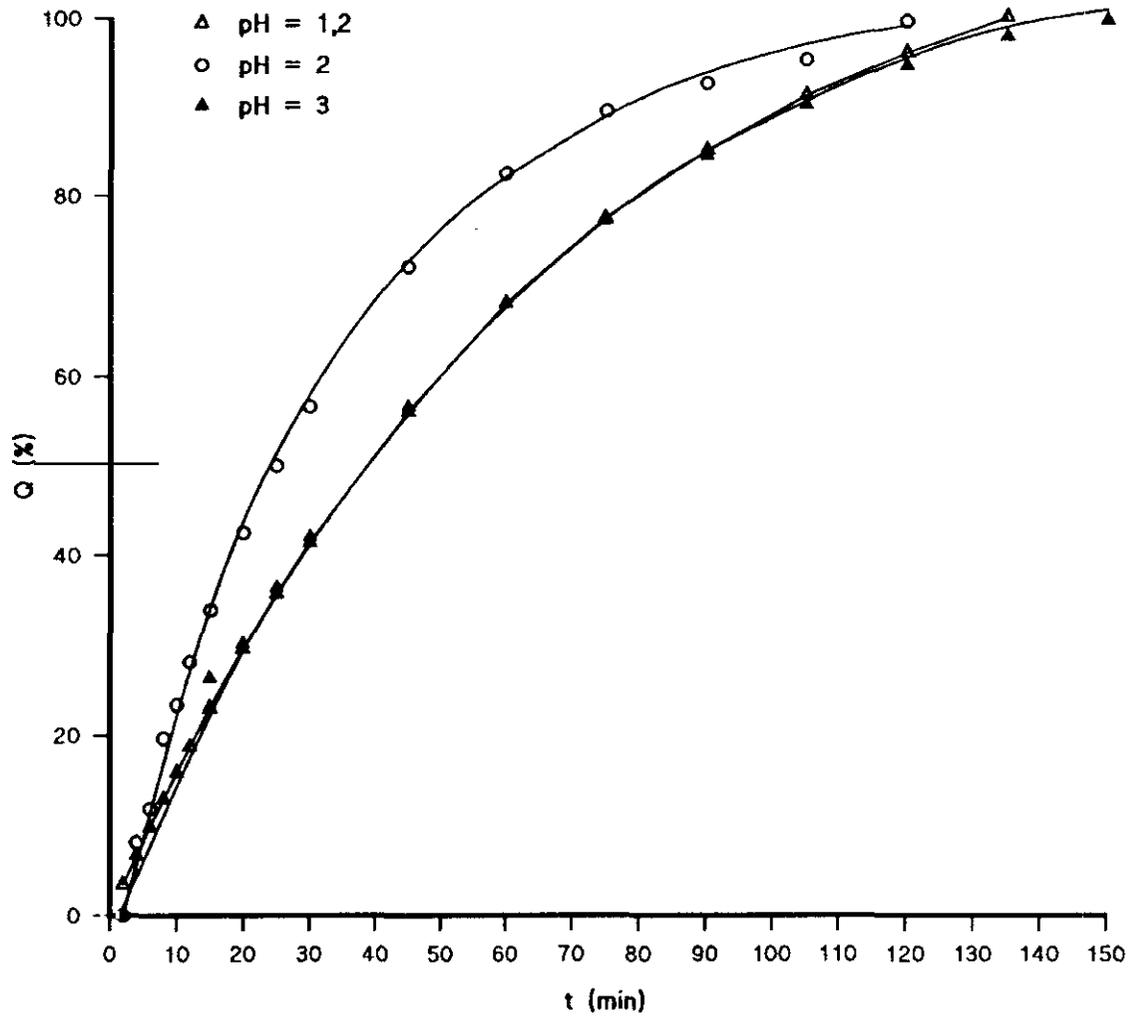


Figura 21. Cinética de disolución-pH del Lobuprofeno.

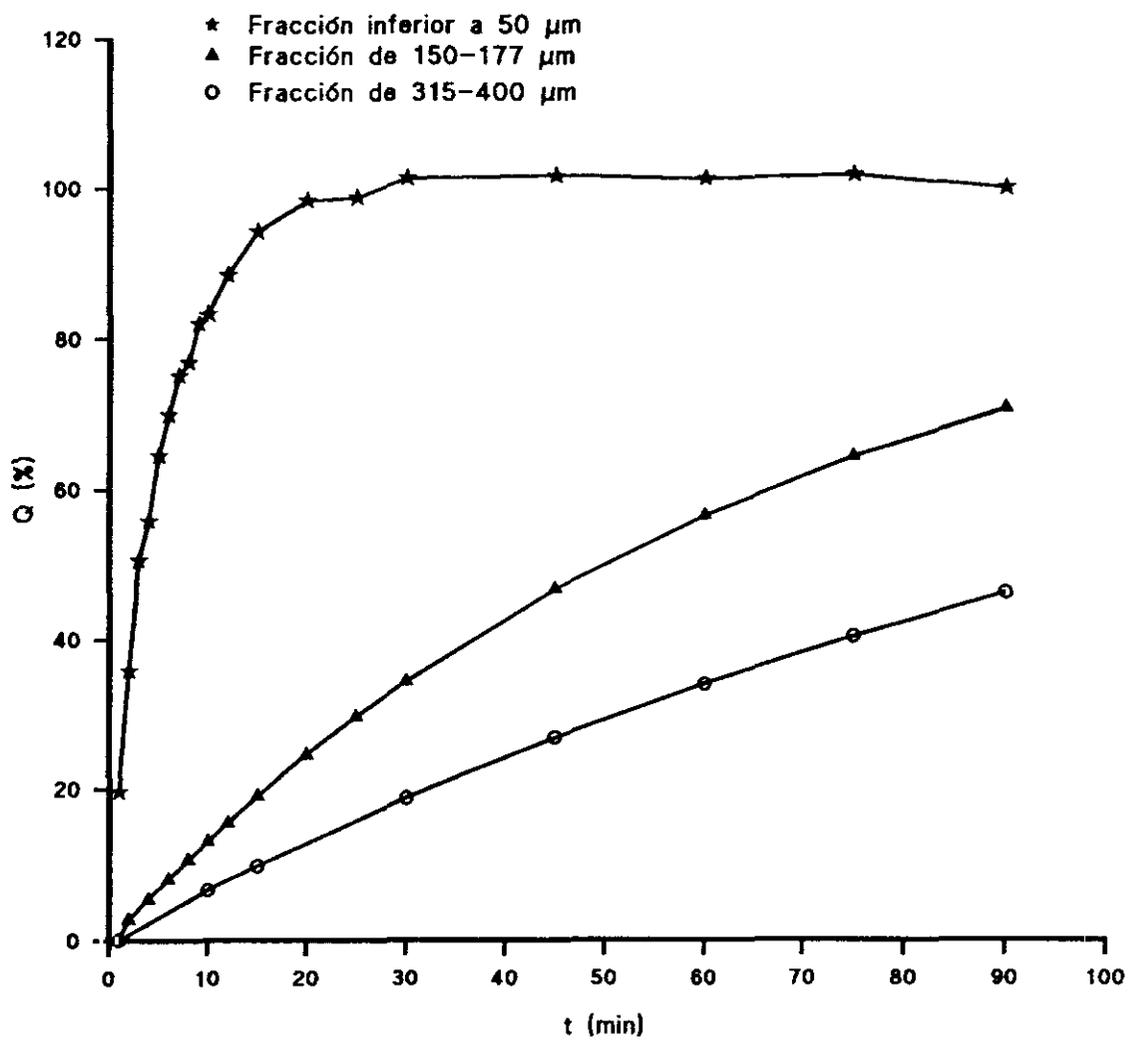


Figura 22. Cinética de disolución en función del tamaño de partícula.

3.1.A.4. POLIMORFISMO

Los polimorfos son diferentes formas de un mismo compuesto químico que tienen propiedades físicas y físicoquímicas distintas. Así por ejemplo, el punto de fusión, la densidad, la dureza y forma de los cristales, la solubilidad, las propiedades ópticas y eléctricas... varían con los diferentes polimorfos⁽⁷⁶⁻⁷⁷⁾.

Para abordar este estudio existen numerosas técnicas⁽⁷⁸⁾, como son la difracción de rayos X, métodos de análisis térmico, análisis de la solubilidad de fases, determinación del índice de refracción cristalino, técnicas termomicroscópicas, métodos espectroscópicos (IR, RMN, Raman), etc. Entre todas ellas cabe considerar, por su sencillez, la determinación del punto de fusión. Asimismo, al disolver dos polimorfos en un determinado solvente, se produce el mismo soluto y sin embargo, la velocidad del proceso y la cantidad de soluto en equilibrio con el solvente a una determinada temperatura puede ser más elevada en una forma que en otra. Por ello, también sería posible plantear el estudio desde el punto de vista de diferencias en la solubilidad, así como en la velocidad de disolución^(79,80).

METODO

Para la obtención de posibles polimorfos se realizan cristalizaciones de Lobuprofeno en distintos disolventes: isopropanol, etanol y cloroformo. Se consiguen disoluciones saturadas por medio de calentamiento al baño maría con reflujo. Se dejan enfriar lentamente y en reposo a temperatura ambiente, recogién dose por filtración los cristales formados, que se desecan a 60 °C con vacío, tamizándolos a continuación y recogiendo la fracción comprendida entre 150-177 μm .

El punto de fusión se determina por el Método II de la B.P. 88.

La solubilidad se determina dejando estabilizar una disolución saturada del producto en ClH 0,1 N a 25 °C, hasta obtener una concentración constante determinada por HPLC, según el método descrito en el análisis cuantitativo, la cual se alcanza a las 24 h de agitación.

La velocidad de disolución se estudia por el método USP XXII, aparato 2, siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 3.1.A.3.1 de esta memoria.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

En la tabla XL se presentan los resultados obtenidos para los puntos de fusión de los distintos cristales. Los correspondientes valores de coeficientes de solubilidad C_s (mg/l) aparecen reflejados en la tabla XLI. Los valores de las constantes aparentes de velocidad de disolución K' (min^{-1}) y los coeficientes de correlación de las rectas de regresión correspondientes a la ecuación que define la cinética de disolución de orden 1, se encuentran recogidos en la tabla XLII.

Al aplicar el estudio estadístico de análisis de varianza sobre los tres grupos para cada uno de los parámetros C_s y K' se obtienen los resultados expresados en la tabla XLIII.

Los resultados obtenidos al analizar los puntos de fusión de los tres tipos de cristales procedentes de cristalizaciones con distintos solventes orgánicos no permiten prever la posibilidad de existencia de polimorfos, lo cual se ve apoyado por la no existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos cuando se estudian los parámetros relacionados con la solubilidad: coeficiente de solubili-

dad y constante aparente de velocidad de disolución. No obstante, aunque con el estudio realizado no es posible afirmar categóricamente que el Lobuprofeno no presenta polimorfismo, para lo cual se necesitaría llevar a cabo un estudio exhaustivo con técnicas más complejas, sí puede presuponerse que la probabilidad de su existencia es mínima, al menos en los disolventes orgánicos que con más frecuencia podrían usarse en el proceso de síntesis. Todo ello, unido al hecho de que no se modifican las características de solubilidad en los diferentes recristalizados, permite garantizar una mínima influencia del fenómeno de polimorfismo, si lo hubiera, en los aspectos biofarmacéuticos de la sustancia objeto de estudio.

Muestra recristalizada de:	PF (°C)
Isopropanol	165-167
Cloroformo	166-169
Etanol	165-168

Tabla XL. Puntos de fusión de distintos cristales de Lobuprofeno.

Número de muestra	Coeficientes de solubilidad (mg/l)		
	Cristalizado de isopropanol	Cristalizado de cloroformo	Cristalizado de etanol
1	151,3	156,1	154,4
2	133,7	141,1	134,2
3	126,7	160,9	162,6
4	138,4	159,2	164,2
5	150,1	--	--
\bar{x}	140,0	154,3	153,8
S	10,6	9,0	13,8
CV (%)	7,6	5,8	8,9

Tabla XLI. Coeficientes de solubilidad de distintos cristales de Lobuprofeno.

Número de muestra	Cristalizado de isopropanol		Cristalizado de cloroformo		Cristalizado de etanol	
	$K'(\text{min}^{-1})$	r	$K'(\text{min}^{-1})$	r	$K'(\text{min}^{-1})$	r
1	0,01506	0,9973	0,01852	0,9962	0,01541	0,9946
2	0,01542	0,9841	0,01743	0,9930	0,01326	0,9973
3	0,01548	0,9617	0,01647	0,9956	0,01404	0,9962
4	0,01838	0,9772	0,01734	0,9930	0,01688	0,9953
5	--	--	--	--	0,01752	0,9923
\bar{x}	0,01608		0,01744		0,01542	
s	$1,54 \times 10^{-3}$		$8,40 \times 10^{-4}$		$1,81 \times 10^{-3}$	
CV (%)	9,58		4,82		11,74	

Tabla XLII. Constantes aparentes de la velocidad de disolución y coeficientes de correlación, suponiendo una cinética de orden 1, para distintos cristales de Lobuprofeno.

Parámetro	Disolvente de cristalización	n	Media	Varianza factorial	F _{exp}
C _s (mg/l)	Isopropanol	5	140,0	112,4	2,40
	Cloroformo	4	154,3	81,0	
	Etanol	4	153,8	190,4	
K' (min ⁻¹)	Isopropanol	4	0,01608	2,3753 x 10 ⁻⁶	2,06
	Cloroformo	4	0,01744	70,5600 x 10 ⁻⁸	
	Etanol	5	0,01542	3,2761 x 10 ⁻⁶	

Tabla de Snédecor: F_(2,10; p = 0,05) = 4,1

F_{exp} < F_{tab}: Diferencia no significativa.

Tabla XLIII. Análisis de la varianza aplicado sobre los valores de coeficiente de solubilidad y constante aparente de velocidad de disolución, obtenidos para distintos cristales de Lobuprofeno.

3.1.A.5. CONSTANTE DE IONIZACION; DETERMINACION DEL VALOR
APROXIMADO DEL pK_a

La constante de ionización revela las proporciones de las diferentes especies iónicas en las cuales se disocia una sustancia a un determinado pH. Se puede hablar de constante de ionización termodinámica (K_a), referida a las actividades de las distintas especies químicas y de la constante de ionización estequiométrica (K_a^c) referida a la concentración molar de las mismas. De forma experimental se determina una constante de ionización aparente (K_a^m o K_a'), que es un híbrido de la estequiométrica y la termodinámica.

Muchas de las sustancias utilizadas en terapéutica son compuestos de carácter débilmente ácido o básico y en solución existen como especies ionizadas y no ionizadas. Por ello, la constante de ionización condiciona directa o indirectamente algunas características farmacológicas⁽⁸¹⁾, biofarmacéuticas y tecnológicas de los medicamentos.

La absorción está relacionada con la fracción de fármaco que, en solución, esté no-ionizada. Los factores más importantes que determinan la absorción de compuestos débilmente ácidos o básicos son el pH, el lugar de

absorción, la constante de ionización y la lipofilia de las especies no ionizadas.

Existen numerosos métodos, descritos en la bibliografía⁽⁸²⁻⁸⁸⁾, para la determinación de la constante de ionización.

Para compuestos con una solubilidad de 0,01 M o superior se pueden llevar a cabo valoraciones potenciométricas usando reactivos valorantes de concentración aproximada 0,1 M. Se puede obtener así un valor para pK_a , midiendo el pH en el punto de semineutralización, en el cual el pH es igual al pK_a . El pH con los métodos habituales de determinación, es más la medida de la actividad del ión hidronio que su concentración, aunque ambos términos no difieren apreciablemente con valores de pH comprendidos entre 2 y 10.

La determinación espectrofotométrica está basada en la determinación directa de la relación molar del par ácido-base conjugada con una serie de disoluciones amortiguadoras de pH conocido. Aunque más lento que la potenciometría, es un método especialmente útil para sustancias escasamente solubles y para trabajar a valores de pH extremos, que caen fuera del rango de detección del electrodo de vidrio.

Otros métodos están basados en la determinación de la solubilidad, el coeficiente de reparto en función del pH de la fase acuosa, en técnicas conductimétricas y en la espectrofotometría de resonancia magnética protónica.

En el caso de principios activos altamente insolubles en forma no ionizada, se puede determinar la constante de ionización en sistemas semiacuosos de proporción variable.

Puesto que la molécula objeto de estudio, Lobuprofeno, tiene una muy baja solubilidad en medio acuoso ($C_s = 0,138$ mg/ml), no puede utilizarse la potenciometría en medio hídrico para la determinación de su constante de ionización.

Por la misma razón, tampoco se puede recurrir a los métodos basados en el coeficiente de solubilidad o el coeficiente de reparto en función del pH del medio.

La aplicación del método espectrofotométrico requiere que existan diferencias significativas en los valores de absorbancia, para la forma ionizada y no ionizada, a una determinada longitud de onda. En el Lobuprofeno, esto sólo ocurre alrededor de 208-210 nm (tabla XLIV), pero como se puede apreciar en la figura 23, los espectros de absorción en esa zona están poco definidos, por lo cual resulta poco

aconsejable emplear este método para la obtención de valores fiables del pK_a .

Por todo ello, se procede a la determinación de su valor de pK_a a partir de los datos obtenidos potenciométricamente en medios semiacuosos.

Dado que el agua es el solvente universal, el valor de pK_a que se maneja es el referido a una solución acuosa.

Mizutani⁽⁸⁹⁾ fue el primero que utilizó la técnica de determinación del pK_a realizando la experimentación en soluciones semiacuosas, para aquellas sustancias en las cuales su escasa solubilidad en agua, no permite su determinación en medios netamente acuosos. Se basa esta técnica en obtener distintos valores de psK_a , para una serie de porcentajes de metanol. La representación del psK_a frente a la concentración de metanol del disolvente, origina una línea recta, que al extrapolarla a concentración cero de metanol proporciona el valor de pK_a en agua.

Este método, aun cuando ha sido ampliamente utilizado por muchos investigadores, es totalmente empírico, puesto que no se basa en ningún razonamiento teórico. Un razonamiento teórico fue desarrollado por Yasuda⁽⁹⁰⁾, demostrando que sí existe una relación lineal entre $psK_a + \lg [H_2O]$ y

la inversa de la constante dieléctrica de la mezcla solvente. Siempre que la determinación de los valores de psK_a puedan ser realizados en soluciones de constante dieléctrica superior a 50, el valor de ordenada correspondiente a la constante dieléctrica del agua permite el conocimiento del pK_a con suficiente aproximación.

El cálculo del valor de psK_a en un medio semiacuoso (SH) se lleva a cabo mediante la expresión

$$psK_a = pa'H - \log \frac{m_A^-}{m_{AH}} - \log \frac{S_A^-}{S_{AH}} \quad [18]$$

Donde m es la molaridad de A^- y AH .

sK_a es la constante de disociación termodinámica de un ácido HA en un solvente SH .

S_i es el coeficiente de actividad en el medio SH . En disoluciones muy diluidas puede considerarse igual a la unidad, con lo que el término

$\log \frac{S_A^-}{S_{AH}}$ se anula

$a'H$ es la actividad de hidrogeniones referidos a un estado estándar, en una mezcla de solventes.

Esta ecuación es la de Henderson-Hasselbach, que utiliza los valores termodinámicos para los solventes SH .

La relación entre el pH en medio acuoso y el $\text{pa}'\text{H}$ viene dada por la siguiente expresión:

$$\text{pa}'\text{H} = \text{pH} - \delta \quad [19]$$

δ es independiente de la concentración y naturaleza del soluto, con tal de que la fuerza iónica no sea muy elevada, y el pH se encuentre situado entre los límites similares a los correspondientes a los sistemas acuosos. Los valores de δ se encuentran tabulados para mezclas de metanol-agua en el trabajo de Ong y cols.⁽⁹¹⁾.

La constante de ionización varía, en general, con la temperatura tomando, normalmente, la curva de correlación forma de parábola. Por ello, y aunque esta variación sea más o menos importante según las sustancias, se precisa un buen control térmico durante su determinación.

METODO

Se preparan disoluciones de Lobuprofeno a una concentración aproximada de $1,1 \times 10^{-3}$ M para las proporciones de metanol/agua de 55/45 (p/p) y 60/40 (p/p), de $5,2 \times 10^{-4}$ M para la proporción de metanol/agua de 50/50 (p/p) y de 2,2

$\times 10^{-4}$ M para la proporción de 45/55 (p/p). No ha sido posible trabajar con concentraciones más elevadas de Lobuprofeno, ya que a los valores de pH ácidos correspondientes a la fase inicial de los ensayos, el Lobuprofeno se encuentra ionizado, con una solubilidad superior a la de la misma molécula a valores de pH en los que se encuentra no ionizada, por lo que, a lo largo de la adición de reactivo valorante, se podrían producir precipitaciones, como así se han observado, con concentraciones más altas que las indicadas.

35 ml de cada una de las disoluciones se valoran con mezclas de Metanol-Hidróxido sódico 0,1 N ($F = 1$). Se emplea un valorador automático Metrohm con dos electrodos: uno de vidrio y uno de referencia Ag/ClAg. Se realiza la misma operación con un blanco preparado en cada caso con las proporciones correspondientes de medio semiacuoso. Durante todo el ensayo se mantiene termostaticado el sistema a 20 °C.

Las valoraciones se realizan por triplicado, recojiéndose los valores medios.

Para la obtención de los valores de psK_a , se sustraen, para cada valor de pH, los volúmenes de reactivo

valorante empleados para neutralizar el blanco, de los gastados para la neutralización de las muestras problema (ΔV). El punto de equivalencia es determinado automáticamente por el instrumento empleado. Se obtiene así un valor de ΔV que dividido por dos proporciona un valor de $p_a'H$ correspondiente al punto de semineutralización, con el cual, y una vez corregido el factor δ , se obtiene el psK_a (valor de pK_a para cada porcentaje de metanol), y representando los valores de psK_a frente al porcentaje de metanol en el medio semiacuoso, siguiendo el procedimiento de Mizutani, se origina una línea recta, a partir de la cual, por extrapolación, se puede obtener un valor aproximado del pK_a en agua.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los resultados obtenidos para la neutralización del Lobuprofeno, en los distintos medios semiacuosos, se recogen en las tablas XLV a XLVIII. La tabla XLIX muestra los valores aproximados de psK_a en dichos medios. Al representar gráficamente (figura 24) estos valores frente a la concentración de metanol en el disolvente semiacuoso, se obtiene una línea recta que responde a la siguiente ecuación:

$$y = 0,0294 x + 4,53; \quad r = 0,976$$

El valor del coeficiente de correlación obtenido es significativo para un valor de p de 0,05 y $n-2$ grados de libertad.

Extrapolando, en la ecuación lineal, a valores cero de metanol, se obtiene un valor aproximado del pK_a en agua de 4,53.

El hecho de que se obtenga un sólo valor de pK_a para el Lobuprofeno no es de extrañar ya que los resultados obtenidos en el análisis elemental cuantitativo realizado para esta molécula, proporcionan un contenido en cloro que corresponde inequívocamente a un monoclóridato (14,95 % experimental frente a 15,28 % teórico).

Al margen de lo anteriormente expuesto y al contrario de lo que ocurre con la piperazina sin sustituir, para la que se han descrito valores de pK_a de 9,82 y 5,68⁽⁹²⁾, Suzuki y cols. obtienen⁽⁹³⁾, para el fármaco antidepresivo trazodona, cuya estructura química se asemeja mucho a la del Lobuprofeno por tratarse también de una piperazina 1,4 disustituida, un sólo valor de pK_a , debido probablemente a la sustitución del nitrógeno en 4 por un radical *m*-clorofenilo.

Medio de disolución	Máximos de absorción	
	λ (nm)	Abs (Aus)
CLH 0,1 N	246	0,336
	210	1,356
CLH 0,01 N	247	0,297
	208	1,153
KOH 0,1 N	219	0,570
	209	0,175
KOH 0,01 N	266	0,282
	214	0,548
	209	0,119

Tabla XLIV. Longitudes de onda de máxima absorción y absorbancias de Lobuprofeno en distintos medios de disolución.

pH	ΔV (μl)	pH	ΔV (μl)	pH	ΔV (μl)
5,08	0	5,94	87	7,51	128
5,14	14	6,19	101	7,77	129
5,20	29	6,38	116	8,09	130
5,56	43	6,65	115	8,40	131
5,73	58	7,01	125	8,43	132
5,85	72	7,34	127		

Tabla XLV. Neutralización de 35 ml de Lobuprofeno ClH $2,2 \times 10^{-4}$ M con NaOH 0,1 N en medio semiacuoso compuesto por una mezcla de metanol/agua de 45/55 (p/p).

pH	ΔV (μl)	pH	ΔV (μl)	pH	ΔV (μl)
4,94	0	5,88	203	7,46	362
5,03	29	6,02	232	7,74	371
5,27	58	6,15	261	8,09	379
5,39	87	6,31	290	8,69	380
5,51	116	6,49	319	8,74	383
5,64	145	6,75	348	9,32	385
5,76	174	7,11	356		

Tabla XLVI. Neutralización de 35 ml de Lobuprofeno ClH $5,2 \times 10^{-4}$ M con NaOH 0,1 N en medio semi-acuoso compuesto por una mezcla de metanol /agua de 50/50 (p/p).

pH	ΔV (μl)	pH	ΔV (μl)	pH	ΔV (μl)
4,88	0	6,36	611	7,66	881
5,29	87	6,56	698	8,09	889
5,55	175	6,74	757	8,67	897
5,74	262	6,86	786	8,87	899
5,89	349	6,99	815	9,36	904
6,03	437	7,15	844	9,82	920
6,19	524	7,36	873		

Tabla XLVII. Neutralización de 35 ml de Lobuprofeno ClH $1,1 \times 10^{-3}$ M con NaOH 0,1 N en medio semi-acuoso compuesto por una mezcla de metanol /agua de 55/45 (p/p).

pH	ΔV (μ l)	pH	ΔV (μ l)	pH	ΔV (μ)
4,80	0	6,72	616	8,48	769
5,40	103	7,17	719	8,99	774
5,76	205	7,40	753	9,24	857
5,99	308	7,69	747	9,79	916
6,19	411	8,07	757	10,01	997
6,40	513	8,40	766		

Tabla XLVIII. Neutralización de 35 ml de Lobuprofeno ClH $1,1 \times 10^{-3}$ M con NaOH 0,1 N en medio semi-acuoso compuesto por una mezcla de metanol /agua de 60/40 (p/p).

% peso Metanol	Punto de equivalencia		Punto de semineutralización		δ	psK _a
	pH	ΔV (μ l)	$\Delta V/2$ (μ l)	pH		
45	8,40	130	65	5,79	0,09	5,88
50	8,74	383	191	5,83	0,11	5,94
55	8,87	899	449	6,05	0,13	6,18
60	8,40	766	383	6,14	0,15	6,29

Tabla XLIX. Cálculo del psK_a del Lobuprofeno en distintas mezclas de disolvente semiacuoso.

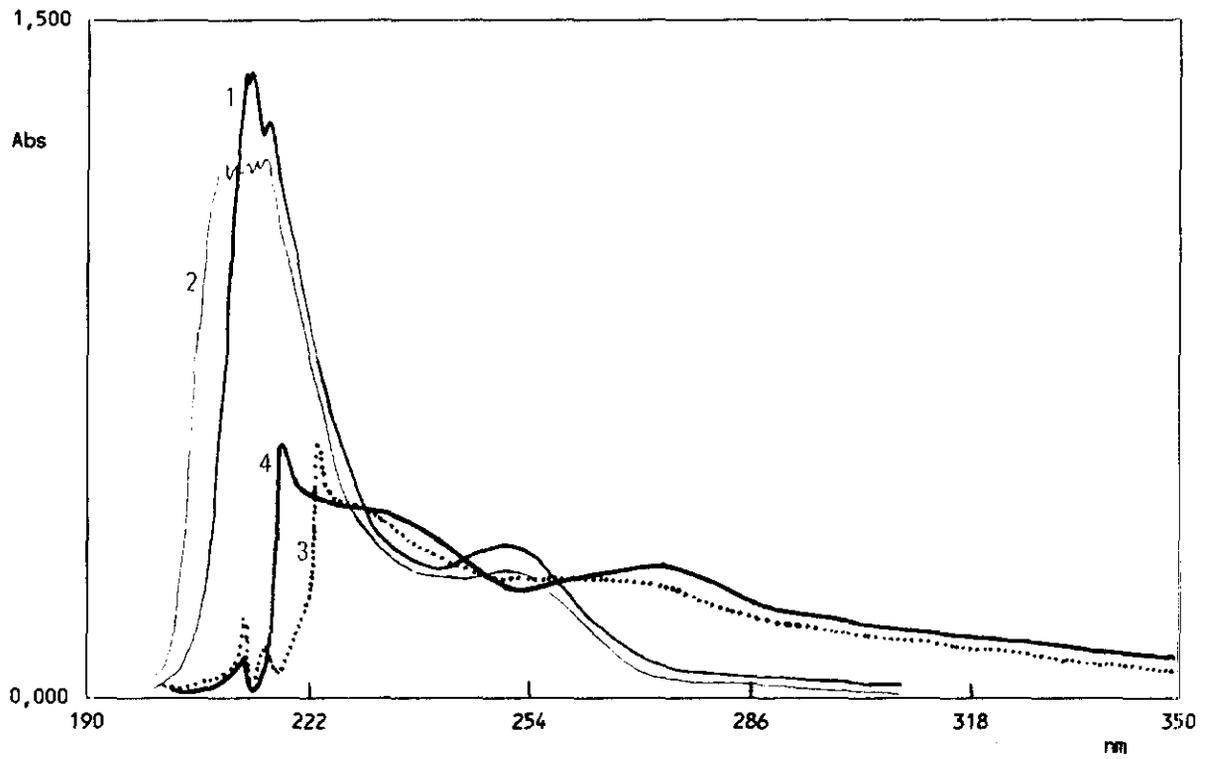


Figura 23. Espectros de absorción UV del Lobupropfen en medio
(1) ClH 0,1 N, pH = 1,1; (2) ClH 0,01 N, pH = 2,1;
(3) KOH 0,1 N, pH = 12,9 y (4) KOH 0,01 N, pH =
11,9.

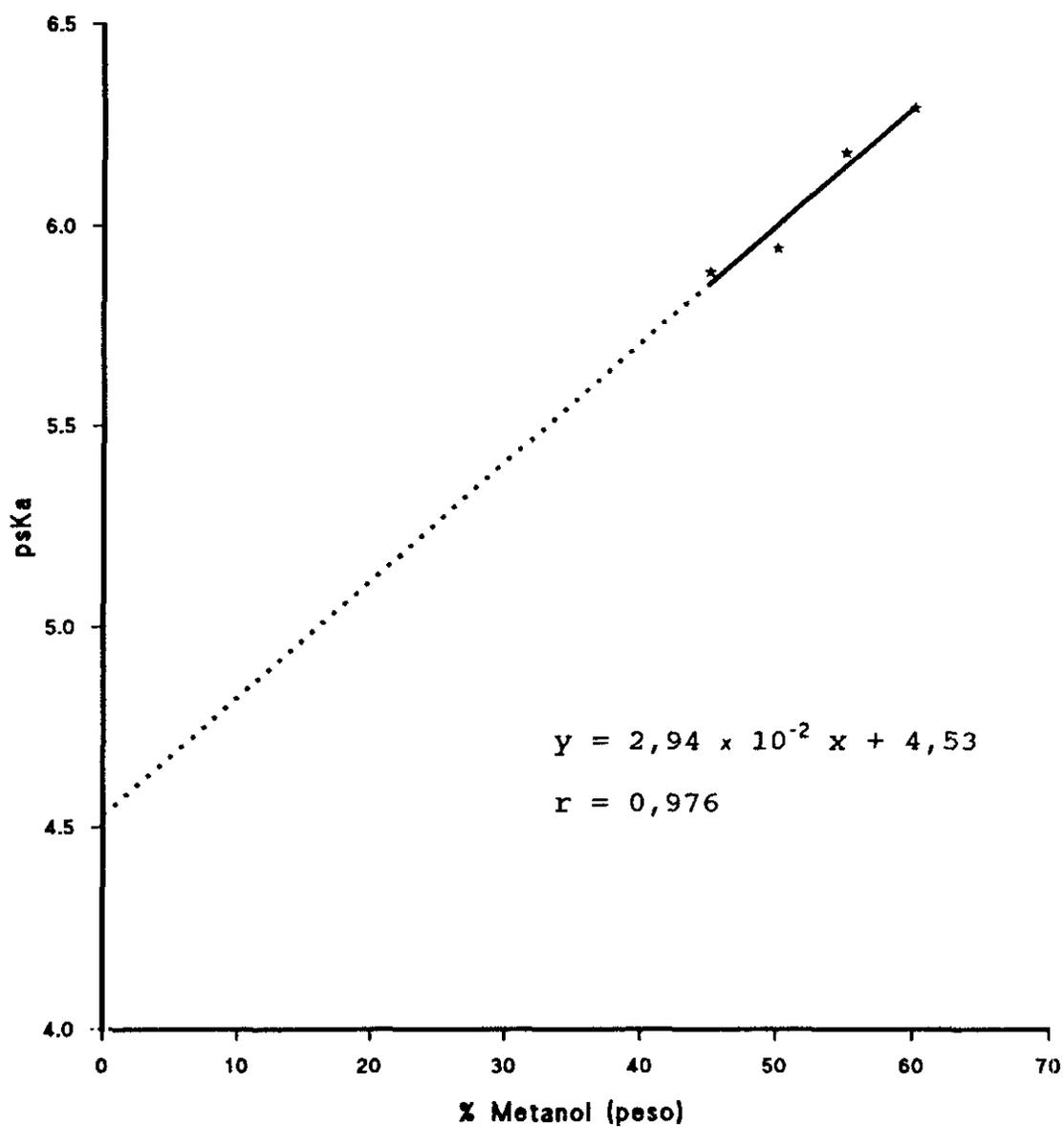


Figura 24. Representación de los valores de psK_a frente a la concentración de metanol en el disolvente semiacuoso.

3.1.A.6. ESTUDIO DE LA LIPOFILIA. DETERMINACION DEL LOG P

La lipofilia molecular es una propiedad decisiva de los fármacos activos a nivel del SNC, tanto si actúan selectivamente como si son no específicos. En una reciente revisión, Gupta⁽⁹⁴⁾ ha señalado la importancia de la lipofilia molecular en la acción farmacológica de diversas familias de anestésicos generales, hipnóticos y sedantes, ansiolíticos, psicoestimulantes, anticonvulsionantes, antiparkinsonianos, analgésicos, antipsicóticos, alucinógenos, etc.

Hay dos tipos de parámetros que definen la lipofilia molecular⁽⁹⁵⁾: a) los que consideran la molécula entera; b) los que consideran un fragmento de la misma.

En el primer caso las constantes utilizadas son habitualmente el logaritmo del coeficiente de reparto, $\log P$, o parámetros cromatográficos como R_M . Termodinámicamente, el coeficiente de reparto, P , se define como una constante que relaciona la actividad de un soluto en dos fases inmiscibles en el equilibrio

$$P = \gamma_o C_o / \gamma_w C_w \quad [20]$$

donde γ_o y γ_w son los coeficientes de actividad del soluto en las fases orgánica y acuosa respectivamente y C_o y C_w son las concentraciones del mismo en dichas fases (el n-octanol es el disolvente lipófilo normalizado).

Para disoluciones diluidas, la ecuación anterior toma la forma

$$P = C_o/C_w \quad [21]$$

R_M es un parámetro cromatográfico definido como se indica en la ecuación [22] y constante para un sistema determinado de cromatografía en capa fina (C.C.F.).

$$R_M = \log (1/R_f - 1) \quad [22]$$

Además de lo anteriormente expuesto, para expresar la contribución lipofílica de fragmentos moleculares pueden emplearse parámetros tales como las constantes de sustituyente π de Hansch-Fujita, o constantes fragmentarias, f .

Las constantes de Hansch-Fujita se definen como

$$\pi_x = \log (P_{Rx}/P_{RH}) \quad [23]$$

y representan la variación de la lipofilia que se origina al sustituir por X un hidrógeno en un compuesto RH no sustituido.

Las constantes fragmentarias, f' de Hansch-Leo⁽⁹⁶⁾ y f de Rekker⁽⁹⁷⁾, parametrizan la lipofilia de una subestructura molecular y se obtienen por regresión lineal de un banco de datos de $\log P$.

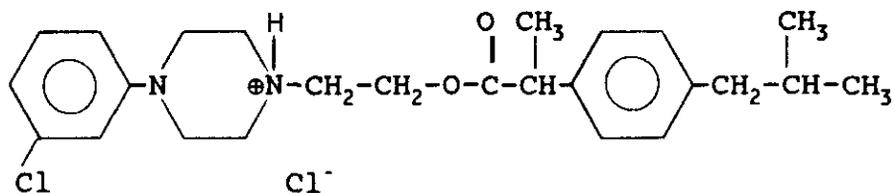
Experimentalmente, el procedimiento normalizado para la determinación del $\log P$ es el del matraz vibrante (shake-flask)⁽⁹⁸⁻¹⁰¹⁾, pero presenta una serie de desventajas prácticas entre las que cabe destacar las siguientes: a) lentitud, b) grandes errores causados por pequeñas impurezas con grupos cromóforos fuertes, c) dificultades para su determinación en compuestos muy insolubles en agua o que no pueden ser detectados por los métodos convencionales y d) el limitado rango de valores de $\log P$ que pueden ser medidos. Para obviar estos inconvenientes, desde hace algunos años se ha venido utilizando la cromatografía líquida de alta resolución, sobre todo en fase reversa (RP-HPLC) como un método alternativo para la medida de la lipofilia molecular⁽¹⁰²⁻¹⁰⁵⁾. Entre otras ventajas, este método es altamente reproducible y permite un rango de medida de $\log P$ que va desde -12 a +12.

3.1.A.6.1.- Cálculo de log P por el método de Hansch-Leo

El método de Hansch-Leo⁽⁹⁶⁾ es el procedimiento más usado para el cálculo de los valores de log P. En el caso del Lobuprofeno se han realizado las siguientes consideraciones: (el significado de los símbolos está indicado en la tabla L).

- 1.- Se consideran 5 enlaces σ para evaluar el factor de corrección de flexibilidad de cadenas, F_b , del fragmento de Ibuprofeno y no las del resto de Cloroalcanol. Estas últimas se ven afectadas por un N piperazínico y por tanto es más correcto emplear factores de corrección F_{bNM} .
- 2.- Como se indica en la literatura⁽⁹⁶⁾ se ha utilizado un $F_{P2}^{N/H}$ o $F_{P2}^{+/H}$ de -0'10 para el ciclo de piperazina.

3.1.A.6.1.1. Cálculo del log P del Lobuprofeno monohidrocloruro



$$\log P = 2f'(\text{C}_6\text{H}_4) + 3f'(\text{CH}_3) + 7f'(\text{CH}_2) + 2f'(\text{CH})$$

$$2(1'67) + 3(0'89) + 7(0'66) + 2(0'43)$$

$$+ f'^{1R}(\text{COO}) + f'(\text{N}^+\text{H}, \text{Cl}^-) + f'^{\theta}(\text{N}) + f'^{\theta}(\text{Cl}) + (5-1) \text{Fb}$$

$$+ (-1'38) + (-3'86) + (-0'93) + (0'94) + 4(-0'12)$$

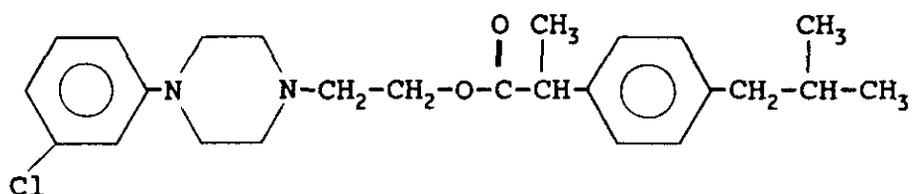
$$+ 3F_{\text{BY}}^{+1} + 3F_{\text{BY}}^{+2} + 3F_{\text{BY}}^{+3} + 2F_{\text{CBT}} + 2F_{\text{P2}}^{+/H}$$

$$+ 3(-0'78) + 3(-0'48) + 3(-0'34) + 2(-0'13)$$

$$[f'(\text{N}^+\text{H}, \text{Cl}^-) + f'^{\theta}(\text{N})] + F_{\text{P2}}^{+/H} [f'(\text{N}^+\text{H}, \text{Cl}^-) + f'^{1R}(\text{COO})] =$$

$$+ 2(-0'10) \quad (-3'86-0'93) + (-0'26) \quad (-3'86-1'38) = 3'04$$

3.1.A.6.1.2. Cálculo del log P del Lobuprofeno base libre



$$\begin{aligned}
\log P = & 2f'(\text{C}_6\text{H}_4) + 3f'(\text{CH}_3) + 7f'(\text{CH}_2) + 2f'(\text{CH}) \\
& 2(1'67) + 3(0'89) + 7(0'66) + 2(0'43) \\
& + f'^{\text{IR}}(\text{COO}) + f'^{\text{O}}(\text{N}) + f'(\text{N}) + f'^{\text{O}}(\text{Cl}) + (5-1) F_b + \\
& + (-1'38) + (-0'93) + (-2'18) + (0'94) + 4(-0'12) \\
& (6-1) F_b + 3 F_{\text{bYN}} + 2 F_{\text{cBr}} + 2 F_{\text{P2}}^{\text{H/H}} [f'(\text{N}) + f'^{\text{O}}(\text{N})] + \\
& + 5(-0'09) + 3(-0'20) + 2(-0'13) + 2(-0'10) (-2'18-0'93) \\
& F_{\text{P2}}^{\text{H/H}} [f'(\text{N}) + f'^{\text{IR}}(\text{COO})] = 7'69 \\
& + (-0'26) (-2'18-1'38)
\end{aligned}$$

3.1.A.6.2. Determinación del log P por el método del matraz vibrante (shake-flask)

La técnica del matraz vibrante (shake-flask) consiste en la determinación espectrofotométrica de C_o y C_w en un sistema normalizado de n-octanol-agua. Muchos compuestos tienen naturaleza ácida o básica o ambas y depende del pH de experimentación el que exista una u otra especie; en estos casos, bajo unas condiciones de pH determinadas, se obtiene experimentalmente el coeficiente de distribución D , denominado a veces coeficiente de reparto aparente, P'

o P_{ap} . El coeficiente de distribución y el de reparto están relacionados según la ecuación [24]

$$\log P = \log D + \text{término de corrección} \quad [24]$$

Los valores de los términos de corrección están indicados en la tabla LI.

METODO

Pesar con exactitud alrededor de 25 mg o 50 mg de Lobuprofeno y disolverlos en 3 ml de n-octanol. Añadir 3 ml de ClH 0'1 N (pH = 1,24) saturado con n-octanol y agitar en un agitator a temperatura ambiente (25 °C) durante 5 minutos. Separar las dos fases por centrifugación a 2000 rpm durante 5 minutos. Medir espectrofotométricamente a 246 nm la fase acuosa utilizando como blanco ClH 0'1 N saturado de n-octanol, y con este mismo disolvente preparar una curva de calibrado de Lobuprofeno a las concentraciones de 0'005, 0'01, 0'02 y 0'03 mg/ml. Una vez conocida la concentración en la fase acuosa el coeficiente de distribución se calcula mediante la fórmula [25]

$$D = \frac{C_i - C_w}{C_w} \quad [25]$$

Donde C_i es la concentración inicial de Lobuprofeno en *n*-octanol y C_w es la concentración de Lobuprofeno en ClH 0'1 N en el equilibrio.

A partir del valor del coeficiente de distribución D y mediante la ecuación [26] se calcula el coeficiente de reparto P .

$$\log P = \log D + \log (1 + 10^{pka-pH}) \quad [26]$$

RESULTADOS

La recta de calibrado responde a la siguiente ecuación:

$$\text{Conc (mg/ml)} = -1'9322 + 20945'7 \times \text{Abs (mAus)} \\ (r=0'99994)$$

A partir de ella y con los valores obtenidos en las medidas espectrofotométricas de las muestras problema se

determina la concentración de las mismas (tabla LII). En la misma tabla están reflejadas las concentraciones molares C_w y C_i ($PM = 465$) así como el logaritmo del coeficiente de distribución ($3'34$, $CV = 1,50 \%$) y el logaritmo del coeficiente de reparto obtenido por medio de la ecuación [26] suponiendo un valor de PK_a de $4,53$ y pH de $1,24$. Se obtienen así un valor de $\log P$ de $6,63$ ($CV = 0,75 \%$).

3.1.A.6.3. Determinación del $\log P$ por cromatografía de líquidos de alta resolución (fase reversa).

Este método está basado en la ecuación de Martin [27]

$$\log P = a + b \log K' \quad [27]$$

donde K' es el coeficiente de capacidad del compuesto en estudio en el sistema cromatográfico elegido y viene definido por [28]

$$K' = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad [28]$$

Siendo t_r el tiempo de elución del soluto y t_0 el tiempo de elución de un compuesto de referencia no retenido.

La ecuación [27] no es sino la expresión de la ecuación de Collander⁽¹⁰⁶⁾, en la que se relaciona un sistema de reparto normalizado en *n*-octanol-agua, $\log P$, con otro sistema de reparto entre la fase reversa de la columna de cromatografía (fase lipofílica) y la fase móvil (fase acuosa), $\log K'$. Naturalmente, cuanto más fielmente mimetice el sistema cromatográfico de reparto al normalizado, más se aproximará a la identidad la ecuación [27]. Para asegurarnos que el sistema cromatográfico reproduce un fenómeno de reparto puro es conveniente efectuar una extrapolación a un 100 % de agua en la fase móvil.

La ecuación [27] tomaría la forma

$$\log P = a + b \log K'_w \quad [29]$$

Los valores de $\log K'_w$ son demasiado altos para ser obtenidos experimentalmente, por lo que tienen que ser calculados usando técnicas de extrapolación.

De acuerdo con el concepto del parámetro solubilidad, la relación entre la retención del soluto y la composición de la fase móvil puede ser descrita con suficiente aproximación por⁽¹⁰²⁾:

$$\log K' = \log K'_w - S\phi \quad [30]$$

donde $\log K'_w$ es el factor de capacidad para una elución acuosa al 100 %, S es una constante para cada combinación soluto-eluyente y ϕ es la fracción de volumen de modificador orgánico [31]

$$\phi = \frac{V_{\text{modificador orgánico}}}{V_{\text{agua}} + V_{\text{modificador orgánico}}} \quad [31]$$

Por tanto, si $\log K'_w$ es un parámetro de lipofilia derivado de un fenómeno de reparto más puro que el correspondiente a $\log K'$, la ecuación [29] debe tender a la identidad, es decir, "a" debe ser próximo a cero y "b" a la unidad. Sin embargo, esta extrapolación para compuestos altamente lipofílicos puede inducir a error, ya que la ecuación [30] puede no ser lineal⁽¹⁰³⁾. Para ajustar la no linealidad sería necesario realizar medidas en todo el

rango de ϕ , lo que no es posible dadas las altas cantidades de modificador orgánico necesarias para la elución de estos compuestos.

La naturaleza lipofílica del Lobuprofeno se manifiesta por la alta concentración de modificador orgánico necesaria para su elución (95 % de acetonitrilo) así como por el alto valor del log P calculado, en consecuencia es la ecuación [27], por todo lo anteriormente expuesto, la base matemática para la determinación de su log P.

METODO

Dada la elevada lipofilia del Lobuprofeno, para la determinación experimental de su log P por RP-HPLC se ha utilizado una serie de entrenamiento de compuestos altamente lipofílicos, cuyo log P en n-octanol-agua se encuentra recogido en la literatura⁽¹⁰⁷⁾. La aplicación de la ecuación [27] supone seguir el siguiente esquema de trabajo:

- a) Determinación de log K' para la serie de entrenamiento en las condiciones adecuadas de elución del Lobuprofeno.

- b) Regresión lineal entre $\log K'$ y el $\log P$ en n-octanol-agua tabulado de los compuestos de la serie de entrenamiento, con la que se definen los parámetros de la ecuación [27].
- c) Determinación de $\log K'$ del Lobuprofeno por RP-HPLC; el valor del $\log P$ de este compuesto se calcula por extrapolación en la ecuación obtenida en b).

Condiciones cromatográficas:

Se emplea una columna de fase reversa Novapak C_{18} (15 cm x 3'9 mm D.I., tamaño de partícula de 4 μm) (Waters). Como eluyente se emplea una mezcla de acetonitrilo:acetato sódico 0'01 M (95:5); la columna está termostaticada para conseguir una buena reproducibilidad de los datos cromatográficos; la velocidad de flujo es de 0'2 ml/min.; el tiempo de retención se mide inyectando 3 μl de las soluciones indicadas en la tabla LIII, donde se recoge también la longitud de onda empleada para la detección de cada compuesto. El tiempo muerto de la columna, t_0 , se determina inyectando una solución de nitrato sódico, al 1 % en metanol, como compuesto no retenido.

RESULTADOS

En la tabla LIV se recogen los factores de capacidad de los compuestos de la serie de entrenamiento. Su correlación con el log P tabulado da lugar a la ecuación

$$\log P = 4,218 + 5,350 \log K'$$

$$n = 6; r = 0,945; F = 69,0; p < 0,01$$

El log K' del Lobuprofeno obtenido de 0'3613 es muy superior a cualquiera de los de la serie, por lo cual es necesario extrapolar fuera del rango ensayado, obteniéndose un log P para el Lobuprofeno de 6'15.

3.1.A.6.4. COMENTARIOS

Pese a que ha sido necesario realizar una extrapolaración fuera de rango para la determinación del log P por el método de RP-HPLC, que pudiera conducir a mayores errores de los habituales en este procedimiento, el valor de log P obtenido de 6,15 concuerda aceptablemente con el calculado por el procedimiento de Hansch-Leo. Una mayor

coincidencia se observa con el valor del log P calculado (6,62) a partir de la ecuación [26], obtenida utilizando el coeficiente de distribución (log D) del monoclórhidrato de Lobuprofeno determinado experimentalmente por el método del matraz vibrante (shake-flask) (3,33), que por otra parte se ajusta perfectamente al valor del log P de dicho monoclórhidrato calculado por el método de Hansch-Leo (3'04). En cualquier caso, el valor de log P obtenido para el Lobuprofeno, concuerda con lo esperado, dada la elevada lipofilia de la molécula tal y como se demostró al realizar los estudios de solubilidad de la misma.

Símbolo	Significado
$f'(Z)$	Contribución a la lipofilia del fragmento Z
$f'^{1R}(Z)$	Contribución a la lipofilia del grupo Z unido a un resto bencilo
$f'^{\theta}(Z)$	Contribución a la lipofilia del grupo Z unido a un anillo aromático
F_b	Factor de flexibilidad de enlace σ en cadenas
F	Factor de flexibilidad de enlace σ en ciclos
F_{bYN}	Factor de flexibilidad de enlace σ en enlaces afectados por N
F_{bY}^{+1}	Factor de flexibilidad para aminas protonadas, aplicable al primer enlace σ unido al catión
F_{bY}^{+2}	El mismo significado anterior, aplicable al segundo enlace σ unido al catión
F_{bY}^{+3}	El mismo significado anterior, aplicable al tercer enlace σ unido al catión
F_{cBr}	Factor de ramificación
$F_{P2}^{H/H}$	Factor de proximidad entre dos grupos polares separados por dos carbonos
$F_{P2}^{+/H}$	Factor de proximidad entre un catión y un grupo polar separados por dos carbonos

Tabla L. Símbolos utilizados en el cálculo de $\log P$ por el método de Hansch-Leo.

Compuestos	Término de corrección	Condición
Monoácidos	$\log (1 + 10^{\text{pH}-\text{pka}})$	
Monobases	$\log (1 + 10^{\text{pka}-\text{pH}})$	
Diácidos	$\log (1 + 10^{\text{pH}-\text{pka}_1} + 10^{2\text{pH}-\text{pka}_1-\text{pka}_2})$	$\text{pka}_1 < \text{pka}_2$
Dibases	$\log (1 + 10^{\text{pka}_1 - \text{pH}} + 10^{\text{pka}_1 - \text{pka}_2 - 2\text{pH}})$	$\text{pka}_1 < \text{pka}_2$
Acido y base	$\log (1 + 10^{\text{pka}_1 - \text{pH}} + 10^{\text{pH}-\text{pka}_2})$	pka_2 (ácido) > pka_1 (base)

Tabla LI. Términos de corrección para transformar los coeficientes de distribución en coeficientes de reparto para especies no ionizadas.

Muestra	P (mg)	Abs (mAus)	Conc. (mg/ml)	C_w (M)	C_i (M)	log D	log P
1	25,7	256	$125,48 \times 10^{-4}$	$89,95 \times 10^{-7}$	$18,42 \times 10^{-3}$	3,31	6,60
2	25,6	274	$131,74 \times 10^{-4}$	$94,44 \times 10^{-7}$	$18,35 \times 10^{-3}$	3,28	6,57
3	25,1	194	$93,54 \times 10^{-4}$	$67,05 \times 10^{-7}$	$17,99 \times 10^{-3}$	3,43	6,72
4	25,6	262	$126,01 \times 10^{-4}$	$90,33 \times 10^{-7}$	$18,35 \times 10^{-3}$	3,30	6,59
5	51,5	470	$225,31 \times 10^{-4}$	$161,51 \times 10^{-7}$	$36,92 \times 10^{-3}$	3,36	6,65
6	50,3	505	$242,02 \times 10^{-4}$	$173,49 \times 10^{-7}$	$36,06 \times 10^{-3}$	3,32	6,61
7	50,6	472	$226,26 \times 10^{-4}$	$162,19 \times 10^{-7}$	$36,27 \times 10^{-3}$	3,35	6,64
Valor medio log P = 6,62 n = 7 CV (%) = 0,754				Valor medio log D = 3,33 n = 7 CV (%) = 1,497			

Tabla LII. Coeficiente de distribución (expresado como log D) y coeficiente de reparto (expresado como log P) del Lobuprofeno, obtenidos espectrofotométricamente por el método de shake-flask.

COMPUESTO	CONCENTRACION	λ (nm)
Ftalimida	1 mg/ml en metanol	254
Benzaldehído	1 mg/ml en metanol	254
Nitrobenceno	1 mg/ml en metanol	254
Benceno	1 mg/ml en acetonitrilo	210
Naftaleno	0,1 mg/ml en acetonitrilo	254
Fenantreno	0,1 mg/ml en acetonitrilo	254
Lobuprofeno	1 mg/ml en acetonitrilo	254

Tabla LIII. Condiciones cromatográficas (concentración de las muestras y longitud de onda de detección) empleadas en la determinación del log P del Lobuprofeno por RP-HPLC.

COMPUESTO	log P(1)	t_R	K'	log K'
Nitrato sódico	--	4,11(t_0)	--	--
Ftalimida	1,15	5,05	0,2290	-0,6407
Benzaldehido	1,45	5,52	0,3430	-0,4646
Nitrobenceno	1,84	5,55	0,3503	-0,4554
Benceno	2,09	6,07	0,4769	-0,3216
Naftaleno	3,34	6,88	0,6739	-0,1714
Fenantreno	4,46	8,23	1,0024	0,0010
Lobuprofeno	6,15(2)	13,55	2,2980	0,3613

(1) Log P experimentales por shake-flask (Hansch y Leo)⁽¹⁰⁷⁾.

(2) Log P obtenido a partir de la ecuación [27].

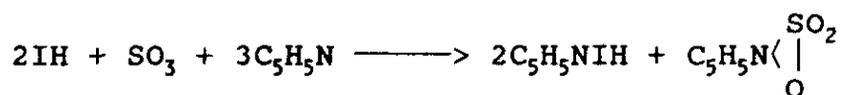
Tabla LIV. Parámetros de lipofilia obtenidos por RP-HPLC.

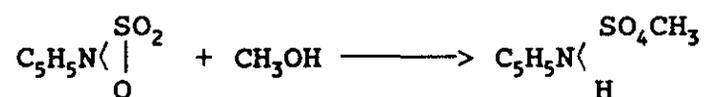
3.1.A.7. HIGROSCOPICIDAD. ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO FRENTE A LA HUMEDAD

Los sólidos, dependiendo de su comportamiento frente a la humedad ambiental, se pueden clasificar en insolubles y solubles. A su vez, los compuestos insolubles que presentan un comportamiento inerte frente a la humedad se denominan cuerpos húmedos y los que captan o ceden agua al estar en contacto con una masa de aire con una determinada humedad se denominan higroscópicos. El comportamiento higroscópico se puede definir a partir del contenido en humedad de equilibrio; al mantener una sustancia en unas condiciones fijas de humedad y temperatura, tiende a alcanzar su humedad de equilibrio, cuyo valor depende únicamente de las características físicas y químicas de la sustancia, de la temperatura y de la humedad relativa. El contenido en humedad de equilibrio se alcanza cuando la tensión de vapor de agua cerca de la superficie del sólido es igual a la presión parcial del vapor de agua de la atmósfera. A partir de un cierto valor de humedad relativa ambiental, los sólidos higroscópicos se comportan como húmedos.

Los sólidos solubles se comportan como higroscópicos hasta una determinada humedad relativa, a partir de la cual se empiezan a solubilizar: se presenta el fenómeno de la deliquesencia. Aunque todos los sólidos solubles son deliquescentes, sólo se les denomina de esta forma a los que presentan este comportamiento a humedades relativas habituales (30-70 %).

Para la determinación de la humedad contenida en una muestra sólida^(108,109) pueden seguirse diferentes procedimientos, de los cuales los más sencillos están basados en medidas de la conductividad, desecación por distintos métodos hasta peso constante y arrastre por vapores de tolueno o xilol. El método de Karl-Fischer es el indicado por la Farmacopea Europea, USP (método I) y Farmacopea Británica (método I). Está basado en la reacción estudiada por Bunsen entre el anhídrido sulfuroso, yodo y agua, empleando como disolvente metanol anhidro y en presencia de piridina:





El principio del método consiste en la disolución o interposición de la muestra, exactamente pesada, en metanol anhidro y en la valoración con el reactivo de Karl-Fischer (yodo, anhídrido sulfuroso y piridina), determinándose el punto final por potenciometría.

METODO

Se obtienen las atmósferas de distintas humedades relativas a partir de disoluciones de ácido sulfúrico en agua⁽¹¹⁰⁾ (tabla LV). Se consiguen así cinco ambientes de humedad relativa, a 20 °C, del 47,2 %, 58,3 %, 70,4 %, 80,5 % y 97,5 %. 250 ml de cada disolución se vierten en los depósitos de los desecadores y se tapan herméticamente para que se produzca la saturación del ambiente. Pasadas 48 horas se verifica con el termohigrómetro la humedad relativa conseguida en el interior.

Preparación de las muestras:

Se deseca una muestra de Lobuprofeno tamizado por 250 μm , en desecador con P_2O_5 , 60 °C y vacío durante 48 h (hasta humedad constante, comprobada por Karl-Fischer). Se introducen las muestras desecadas en pesasustancias formando una fina capa uniformemente repartida de no más de 3 mm de espesor. Se introducen los pesasustancias abiertos en los desecadores y se mantienen en la oscuridad y a una temperatura constante de $20 \pm 0,5$ °C. A los intervalos de tiempo preestablecidos, se procede a la valoración de las muestras exactamente pesadas (\approx 250 mg).

Determinación del contenido en agua por Karl-Fisher:

Las condiciones de trabajo del valorador Karl-Fisher para la determinación del porcentaje de agua de las muestras son las siguientes:

Factor: 4,835 mg/ml ($s = 0,217$); disolvente: metanol; cantidad de muestra aproximada: 250 mg; tiempo de extracción: 5 min; tiempo para determinar el punto final: 30 s (recomendado por la Farmacopea Europea).

El cálculo del factor (mg de agua neutralizados por 1 ml de reactivo) se realiza diariamente a partir de 10 μ l de agua exactamente medidos. Durante el tiempo de análisis se procede a la valoración periódica de cantidades conocidas de agua con el fin de detectar adherencias al electrodo u otras causas de alteración de los resultados.

Los resultados se obtienen en forma de porcentaje de agua que contiene la muestra, de forma que:

$$\% \text{ agua} = \frac{nf}{P} 100 \quad [32]$$

siendo:

n = volumen (ml) de reactivo de Karl-Fischer gastado en la valoración de la muestra.

f = factor.

P = peso (mg) de sustancia problema empleado en la determinación.

Se realizan 3 valoraciones por muestra, calculándose los valores medios.

Por medio de la asíntota de la curva resultante de representar el porcentaje de agua contenida en cada muestra frente al tiempo de almacenamiento de las mismas, se obtiene el valor de humedad de equilibrio para cada

humedad relativa, y representando las diferentes humedades relativas de trabajo frente a las correspondientes humedades de equilibrio se obtiene la curva de equilibrio de humedad del sólido en estudio.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los resultados obtenidos, para las 5 humedades relativas ambientales estudiadas, están recopilados en la tabla LVI. La representación gráfica de estos valores se encuentra en la figura 25.

La tabla LVII muestra los valores de las humedades de equilibrio a las humedades relativas estudiadas, y la representación gráfica de las mismas corresponde a la figura 26.

A la vista de los resultados obtenidos, y aunque el Lobuprofeno se podría clasificar como sólido insoluble higroscópico, ya que no presenta un comportamiento inerte frente a los distintos ambientes de humedades relativas, su poder de captación de agua es muy pequeño (máximo del 0,55 % para una humedad relativa ambiente del 97,5 %), por lo que no parece que este parámetro pueda ser un factor

que ejerza una excesiva influencia sobre la estabilidad de la molécula, tanto en su almacenamiento (materia prima y producto acabado) como en la preparación de aquellas formas farmacéuticas que exijan procesos previos de humectación.

H.R. (%)	Densidad solución ácida (g/ml)	Presión vapor a 20 °C (mm Hg)	g H ₂ SO ₄ /l
97,5	1,05	17,0	84,2
93,9	1,10	16,3	165,3
88,8	1,15	15,4	254,1
80,5	1,20	14,0	336,6
70,4	1,25	12,2	425,5
58,3	1,30	10,1	521,1
47,2	1,35	8,3	624,2
37,1	1,40	6,5	716,5
18,8	1,50	3,3	920,6
8,5	1,60	1,5	1103
3,2	1,70	0,6	1329

Tabla LV. Humedades relativas conseguidas con distintas disoluciones de ácido sulfúrico en agua⁽¹¹⁰⁾.

H.R.(%) t (días)	47,2	58,3	70,4	80,5	97,5
0	0,1494	0,1494	0,1494	0,1494	0,1494
1	--	--	--	--	0,2551
7	0,2911	0,3378	0,4258	0,3892	0,5535
13	0,3875	0,3393	0,4118	0,4560	0,5649
23	0,3956	0,3989	0,4201	0,4857	0,5589
35	0,3484	0,3719	0,4666	0,4843	0,5270
40	--	--	0,4862	0,4771	--
48	0,3778	0,3864	0,4499	0,4674	--
60	0,3698	0,3635	--	--	--

Tabla LVI. Comportamiento del Lobuprofeno frente a la humedad ambiental. Contenido en agua (%) determinado por Karl-Fischer.

Humedad relativa (%)	Humedad de equilibrio $\pm t^* s_m$
47,2	0,3758 \pm 0,0504
58,3	0,3802 \pm 0,0498
70,4	0,4676 \pm 0,0782
80,5	0,4786 \pm 0,0267
97,5	0,5511 \pm 0,0532

t^* de Student para $n-1$ grados de libertad y $p = 0,05$.

Tabla LVII. Humedades de equilibrio de Lobuprofeno a las distintas humedades relativas.

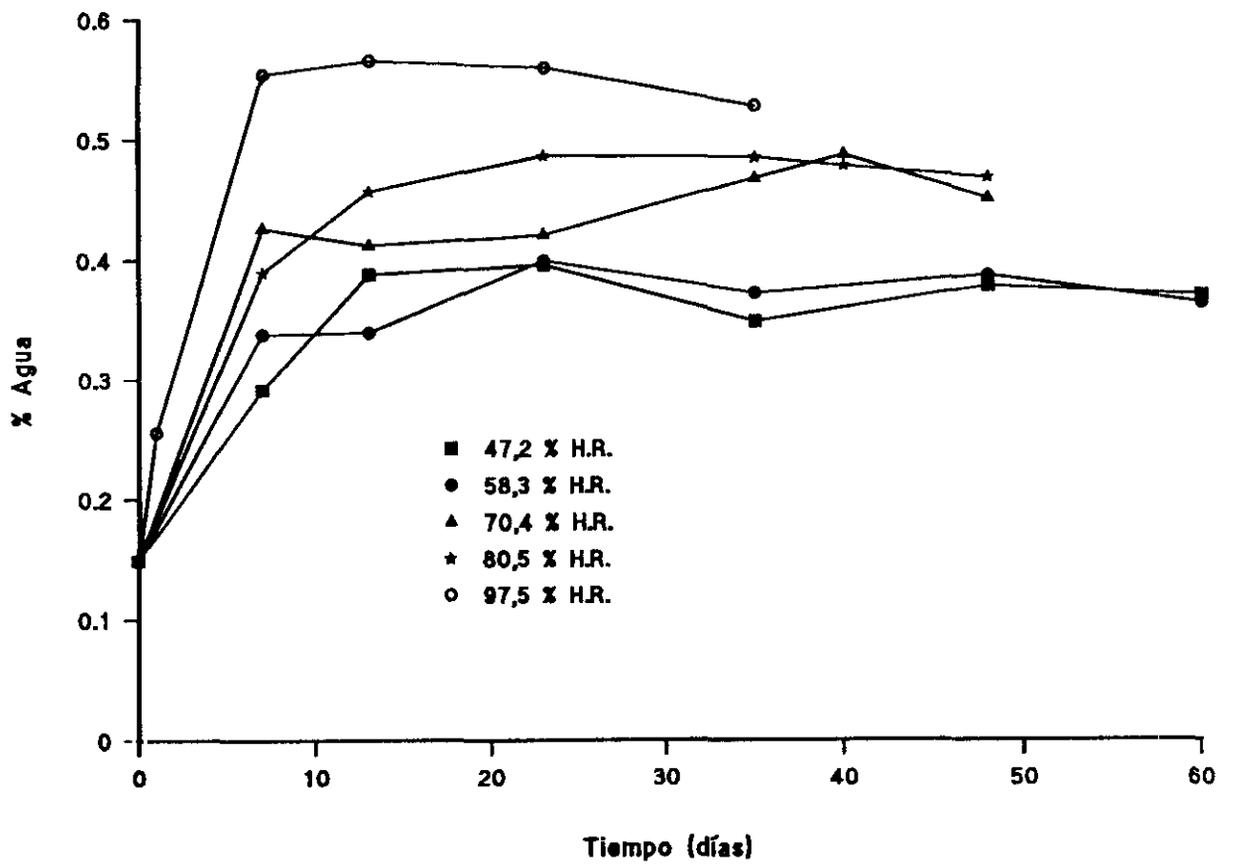


Figura 25. Comportamiento del Lobuprofeno frente a la humedad ambiental.

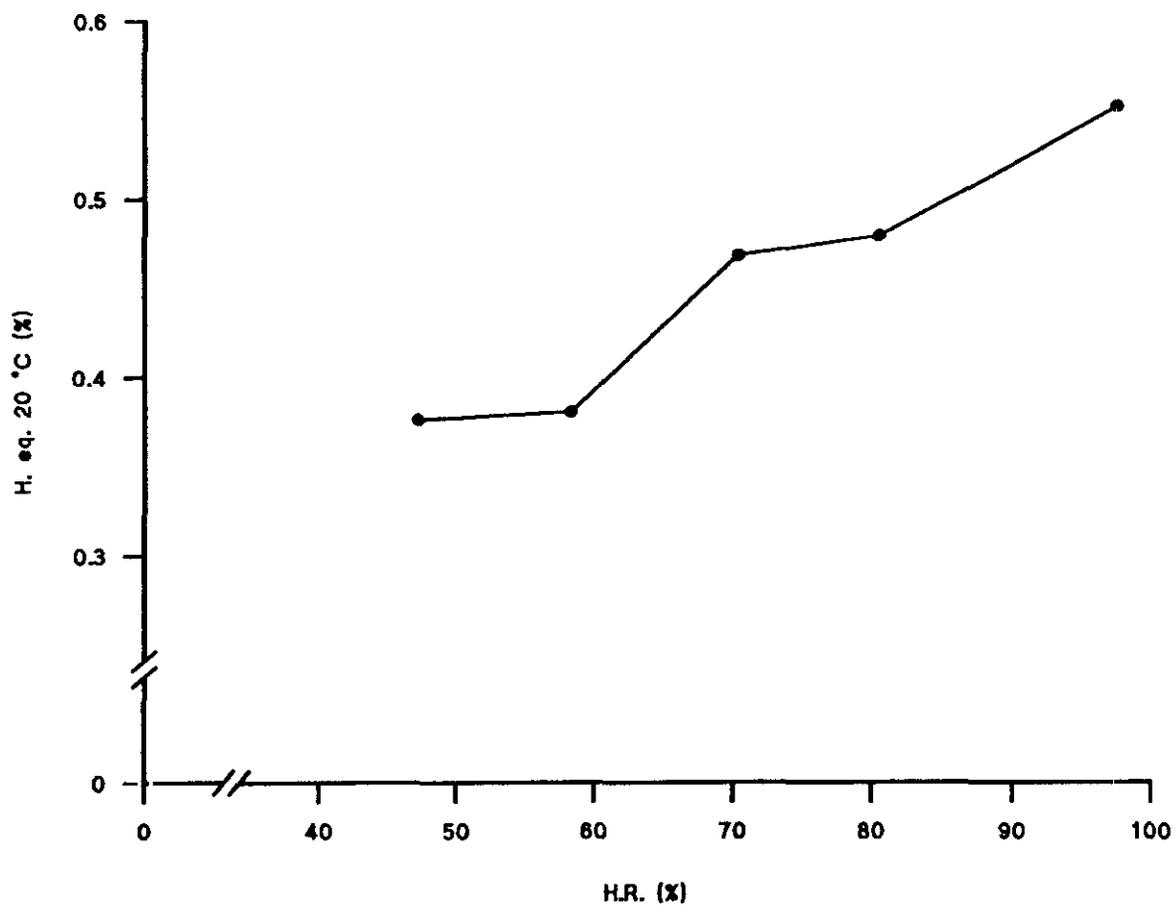


Figura 26. Curva de equilibrio de humedad del Lobuprofeno.

3.1.B. CARACTERISTICAS FISICAS DE INTERES PARA UN POSTERIOR PLANTEAMIENTO DE FORMULACION DE FORMAS SOLIDAS

3.1.B.1. DENSIDAD, POROSIDAD E INDICE DE CARR DE COMPRESIBILIDAD

El volumen aparente de un sólido pulverulento es diferente del volumen real, ya que sobre el primero influye la presencia de aire incluido entre las partículas del polvo, y mientras que el volumen real es constante, el volumen aparente puede variar, dependiendo del empaquetamiento sufrido por el sólido durante el período de almacenamiento y el proceso de fabricación de la forma farmacéutica, pudiendo dar lugar a dosificaciones imperfectas y a irregularidades de peso muy pronunciadas.

Se puede hablar de tres tipos de densidad en base a los volúmenes que se consideren cuando se realicen las medidas de dicho parámetro⁽¹¹¹⁾:

- a) Densidad verdadera o real: sin intervención de los espacios vacíos y los poros de las partículas cuyo tamaño supere las distancias moleculares o atómicas de las redes cristalinas.

- b) Densidad granular: sin considerar los espacios vacíos intragranulares con diámetro inferior a 15μ . Se determina mediante el método de desplazamiento de mercurio, líquido que, a presión normal, no penetra en los poros de diámetro inferior al indicado.
- c) Densidad aparente: o referida al volumen total ocupado por la masa del sólido.

La densidad está directamente relacionada con la porosidad, parámetro importante en el estudio de procesos de compresión y compactación, que depende de la distribución de tamaños, de la forma y de la rugosidad superficial de las partículas que lo constituyen. Porosidades del 26 % proporcionan, suponiendo partículas de forma esférica y tamaño uniforme, empaquetamientos compactos o romboédricos, mientras que porosidades del 48 % proporcionan empaquetamientos abiertos o cúbicos. Según Martin⁽¹¹¹⁾, una gran mayoría de los polvos con los que se trabaja en la práctica tienen porosidades comprendidas entre el 30 y el 50 %. Cuando la distribución granulométrica es heterogénea con exceso de finos, las partículas más pequeñas pueden infiltrarse entre las más grandes, obteniéndose porosidades por debajo del 26 %, por el contrario, si los polvos contienen partículas floculadas o agregadas, se

producirán puentes y arcos en el empaquetamiento, pudiendo superarse el 48 % de porosidad. Así por ejemplo, si en un sistema binario, constituido por dos tipos de partículas de diámetros d y D y la relación entre los mismos es $d = 0,41 \times D$, las más pequeñas se interponen entre las grandes, tendiendo a favorecer el empaquetamiento cúbico, mientras que si la relación es $d = 0,15 \times D$, se favorece el tipo romboédrico. No obstante, son muy pocos los casos reales que se ajustan a un sistema binario y normalmente coexisten los empaquetamientos de los tipos cúbicos y romboédricos con empaquetamientos de tipo intermedio.

Newmann (1967) y Carr (1965)⁽³²⁾ desarrollaron un ensayo muy sencillo para evaluar la fluidez de un polvo comparando los volúmenes inicial y final al someter a dicho sólido a un proceso de compactación; surge así el índice de Carr de compresibilidad (C). No obstante, el término compresibilidad, en este caso, no es muy afortunado, ya que nada tiene que ver con la compresibilidad que determina la capacidad de un polvo de formar una masa compacta al estar sometido a una presión. Los polvos que al aplicarles una determinada presión forman masas duras sin tendencia a laminarse se consideran compresibles y se pueden comprimir sin recurrir a la granulación⁽¹¹²⁾. Polvos

muy porosos originan, por regla general, comprimidos muy friables y fácilmente disgregables.

A partir de los valores de la densidad aparente y densidad real se puede efectuar el cálculo de la porosidad total, como la relación entre el volumen vacío y el volumen total ocupado por una sustancia⁽¹¹³⁾. Así mismo, el índice de Carr se determina a partir de los valores de densidad aparente⁽¹¹⁴⁾.

3.1.B.1.1. METODO

3.1.B.1.1.1. Densidad aparente e índice de Carr de compresibilidad

Los métodos que se emplean para estudiar el volumen aparente de un polvo consisten en la medida del volumen que presenta el mismo, contenido en una probeta graduada antes y después de imprimirle de arriba a abajo un número de choques o golpes determinados, desde una altura convencional.

Si lo que se pretende es medir el volumen aparente de sólidos que van a ser dosificados en cápsulas, siguiendo

procedimientos manuales propios de oficina de farmacia, se puede determinar de forma manual, aplicando 3 golpes en intervalos de 2 a 3 segundos y desde una altura de 2 a 3 cm⁽¹¹⁵⁾. Si los sólidos van a ser dosificados por procedimientos automáticos, con o sin compactación previa, es más conveniente, para la medida del volumen aparente, el empleo de los voluménómetros de compactación, en los cuales, los golpes imprimidos a la probeta de medida se producen de forma mecánica, por lo que es más fácil estandarizar las condiciones del ensayo⁽¹¹⁶⁾.

En nuestro caso, la densidad aparente se determina por el método normal de vibración mecánica de probeta que contiene un determinado peso de sustancia, y en la que se mide el volumen ocupado por el sólido. Se pesa la cantidad necesaria de producto para tener un volumen aparente inicial menor o igual a 100 ml (aproximadamente 33 g), se introduce en la probeta y se mide el volumen ocupado V'_a . Se aplica la vibración mecánica midiendo los volúmenes correspondientes a los 10, 50, 100, 200, 300, 400 y 500 golpes. Se toma el valor del volumen cuando éste se hace constante (V_a) y a partir de la expresión:

$$d_a \text{ (g/ml)} = \frac{M \text{ (g)}}{V_a \text{ (ml)}} \quad [33]$$

se calcula la densidad aparente antes (d'_a) y después (d_a) de la vibración.

El índice de Carr (C) de compresibilidad, expresado en porcentaje, se define de la siguiente forma^(117,32):

$$C = \frac{d_a - d'_a}{d_a} \times 100 \quad [34]$$

3.1.B.1.1.2. Densidad real

En materiales sólidos porosos, la densidad real se suele determinar empleando un densímetro de helio del tipo del de Frankin o, en su defecto, mediante el método de desplazamiento de líquido⁽¹¹⁸⁾, que consiste en determinar el volumen ocupado por el sólido a partir del volumen desplazado cuando se sumerge en un líquido. Este líquido debe reunir las siguientes características:

- Menor densidad que el sólido.
- Baja tensión superficial para que penetre fácilmente en los poros y grietas de las partículas.
- Insolubilidad absoluta del sólido.

Se ha elegido el agua por la baja solubilidad que presenta el Lobuprofeno en este disolvente, no obstante, para tener seguridad de la insolubilidad del principio activo, se prepara una solución sobresaturada del mismo en agua, filtrando el sobrenadante que se emplea como líquido humectante. Se trabaja a temperatura constante de 20 °C, y evitando la manipulación del picnómetro con las manos, se procede del siguiente modo:

1. Añadir una cantidad de principio activo en el picnómetro perfectamente limpio y seco. Pesar (vacío y con principio activo). Completar hasta el enrase con el líquido saturado. Pesar, limpiar y secar.
2. Pesar el picnómetro vacío. Llenar hasta el enrase con líquido saturado y volver a pesar.
3. Cálculo de la densidad del líquido:

$$d_l = \frac{M_l}{V} \quad [35]$$

M_l : masa del líquido = (masa del picnómetro con líquido) - (masa del picnómetro vacío).

V : Volumen del picnómetro = 58,027 ml.

4. Cálculo de la densidad del sólido:

$$d_r = \frac{d_l \times M_s}{M_l - M'_l} \quad [36]$$

M_s : masa del sólido = (masa del picnómetro con sólido) - (masa del picnómetro vacío).

M'_l : masa del líquido que comparte con el sólido el volumen del picnómetro = (masa del picnómetro con sólido enrasado con líquido) - M_s - (masa del picnómetro).

$M_l - M'_l$: masa del volumen de líquido desplazado por M_s gramos de sólido.

3.1.B.1.1.3. Porosidad (ϵ')

Se calcula a partir de los valores de densidad aparente y densidad real, mediante la expresión:

$$\epsilon'_{total} = \frac{V_s - V_r}{V_s} \times 100 = \left(1 - \frac{d_s}{d_r}\right) \times 100 \quad [37]$$

3.1.B.1.2. RESULTADOS Y COMENTARIOS

En cuanto a la densidad aparente, los resultados obtenidos se encuentran en la figura 27 y tabla LVIII, en las que se observa un valor de densidad aparente media de 0,4907 g/ml y un índice de Carr de 31,79 %.

En el estudio de la densidad real se obtiene un valor de masa de líquido humectante de 58,0272 g, con una densidad de 0,9995 g/ml (C.V. de 0,1558 %). El resto de los datos necesarios para determinar este parámetro están recogidos en la tabla LIX. El valor medio obtenido a partir de ellos es de 1,2802 g/ml. La reproducibilidad del método queda avalado por un valor de coeficiente de variación del 1,25 %.

A partir de los valores de densidad aparente y densidad real del Lobuprofeno se calcula la porosidad, obteniéndose un valor de 61,67 %. Este valor tan elevado de porosidad nos hace prever la aparición de serios problemas a la hora de formular el principio activo en forma de comprimidos, por lo que será necesario considerar la posibilidad de utilizar recursos tecnológicos, como son la adición de un pequeño porcentaje de finos, el empleo de excipientes de granulometría adecuada o de procesos de

granulación o de compactación previos a la compresión. Por otra parte, el elevado valor obtenido para este parámetro, también nos permite prever problemas en lo que se refiere a las propiedades de flujo, problemas que será necesario considerar en el planteamiento de las operaciones de fabricación de la materia prima (principio activo), así como en su manipulación, almacenamiento y fabricación de la forma farmacéutica definitiva.

	MUESTRA N° 1	MUESTRA N° 2	MUESTRA N° 3
V ₀ (ml)	98,0	99,0	97,0
V ₁₀ (ml)	91,0	93,0	89,0
V ₅₀ (ml)	78,0	80,0	76,0
V ₁₀₀ (ml)	73,0	72,0	70,0
V ₂₀₀ (ml)	71,0	68,0	67,0
V ₃₀₀ (ml)	69,0	67,0	66,5
V ₄₀₀ (ml)	68,5	66,0	66,0
V ₅₀₀ (ml)	68,5	66,0	66,0
M (g)	33,9	32,0	32,5
d _a (g/ml)	0,4949	0,4848	0,4924
d _a ⁱ (g/ml)	0,3459	0,3232	0,3350
<p>n = 3</p> <p>d_a = 0,4907; s = 0,00526; CV = 1,07 %</p> <p>d_aⁱ = 0,3347; s = 0,01135; CV = 3,39 %</p> <p>C (X) = 31,79</p>			

Tabla LVIII. Densidades aparentes e índice de Carr del Lobuprofeno por el método de vibración mecánica de probeta.

M_s (g)	M'_l (g)	d_r (g/ml)
2,1055	56,3693	1,2699
2,2730	56,2746	1,2969
2,2884	56,2381	1,2791
2,2255	56,2466	1,2498
2,6225	55,9981	1,2924
2,4882	56,1117	1,2989
2,2943	56,2289	1,2758
2,3083	56,2081	1,2689
2,2465	56,2857	1,2899
$n = 9$ $d_r = 1,2802 \text{ g/ml}; s = 0,0160; CV = 1,25 \%$		

Tabla LIX. Densidad real del Lobuprofeno por el método del desplazamiento de líquidos.

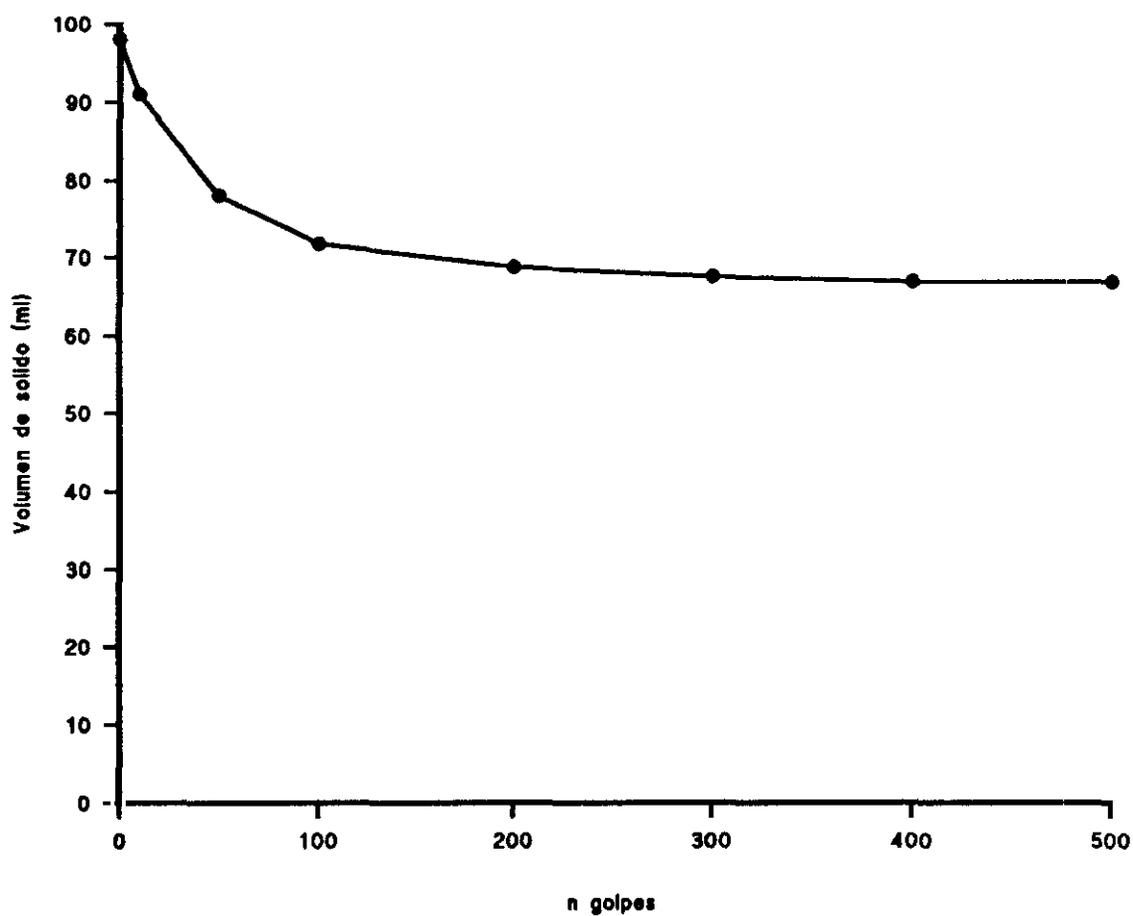


Figura 27. Representación del volumen aparente del Lobuprofeno en función del número de golpes.

3.1.B.2. PROPIEDADES DE FLUJO

El conocimiento de la fluidez de un sólido pulverulento es extremadamente complejo por causa de la gran cantidad de factores que influyen sobre este parámetro, como son su estructura atómica, composición química, densidad, porosidad, forma y tamaño de las partículas. En general, polvos con distribución granulométrica comprendida entre 2000 y 250 μ presentan buenas características de flujo, mientras que los problemas empiezan con tamaños de partícula de 250 a 175 μ y se hacen importantes con partículas de tamaño inferior a 100 μ .

Las propiedades de flujo de un material pulverulento se pueden definir por distintos métodos, que se clasifican:⁽¹¹⁹⁾

1. Métodos basados en la determinación de las características angulares; ángulo de reposo y ángulo de fricción.
2. Métodos que caracterizan el flujo a través de orificios: velocidad de flujo a la apertura máxima bloqueada.
3. Métodos basados en el empaquetamiento de las partículas: determinación de la densidad aparente, o la velocidad de empaquetamiento.

4. Métodos que miden las tensiones principales en lechos pulverulentos, con la determinación de la resistencia a la tensión o resistencia a la cizalla.

De todos los métodos citados, los ensayos angulares son los más utilizados en el control de sólidos pulverulentos de uso farmacéutico, ya que, a pesar de las posibles causas de error que conllevan, siguen siendo los más sencillos, lo que permite realizar con gran facilidad ensayos comparativos entre materiales con distinto grado de humedad, con diferente tamaño de partícula y con diferentes proporciones de distintos excipientes. Por ello se han elegido estos métodos para realizar los estudios del presente trabajo, ya que con ellos se cubre el objetivo planteado: obtener datos de fluidez que puedan servir como referencia en el posterior estudio de formulación en forma de comprimidos, y que justifiquen la necesidad de mejorar o no esta propiedad para hacer posible la elaboración de dicha forma farmacéutica.

El parámetro que define la fluidez en los ensayos angulares es el ángulo de reposo (α), o ángulo de elevación de la superficie libre de una masa de polvo con relación a la horizontal, siendo necesario considerar que los valores de dicho parámetro dependen de la técnica empleada para su determinación.

Otro parámetro directamente relacionado con la fluidez es la cohesión o tendencia de las partículas de un material a unirse entre sí, que depende principalmente del tamaño de éstas (partículas menores de 10μ son las principales responsables de los fenómenos de adherencia) y del contenido en humedad. De forma general, se consideran materiales de flujo libre aquellos que presentan un ángulo de reposo menor o igual a 30° , y de flujo deficiente cuando el ángulo de reposo es superior a 40° ⁽¹²⁰⁻¹²²⁾. Debe existir un equilibrio entre fluidez y cohesión, que vendrá determinado por un intervalo de valores de ángulo de reposo óptimo. Este intervalo, según distintos autores, está comprendido entre los 25° y 45° . Materiales con ángulo de reposo superior a 45° son muy cohesivos y aquellos con ángulo de reposo inferior a 25° se definen como de "flujo libre".

Existe también una estrecha relación (inversa) entre el índice de Carr de compresibilidad y la fluidez, de modo que según aumenta el valor de este índice, disminuye la fluidez (tabla LX), así, materiales con un índice de Carr inferior al 21 % son considerados de flujo libre ⁽¹²³⁾.

Entre las técnicas para la determinación del ángulo de reposo, se pueden enumerar ⁽¹¹⁹⁾:

- I. De embudo fijo, con dos variantes:
 - embudo fijo con sistema de cierre.
 - embudo vibratorio.

- II. Plataforma circular de diámetro fijo:
 - método de Pielpe.
 - método de Sumner.
 - método de Delattre.

- III. Cilindro hueco.

- IV. Caja o mesa inclinada.

- V. Cilindro giratorio.

Los métodos I, II, III y IV miden el ángulo de reposo estático; y el V el ángulo de reposo cinético, con valores, en general, algo menores.

METODO

Los dos métodos elegidos: el del embudo fijo con sistema de cierre y el del cilindro hueco, se basan en la formación de un cono de material a analizar del que se mide con papel milimetrado el diámetro de la base (D) y la altura (h), de forma que:

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{h}{D/2} \quad [38]$$

- Método del embudo fijo con sistema de cierre:

Se dispone el embudo con una agarradera a 3 cm de una superficie lisa y horizontal. Se añade el material a analizar, obturando la salida. Se libera la salida y se observa la formación del cono.

- Método del cilindro hueco:

El cilindro se sitúa verticalmente sobre una superficie lisa y horizontal, se llena del material a analizar y se desplaza lentamente y a velocidad constante hacia arriba de forma manual. Se forma el cono de material.

En ambos métodos se determina la altura y la base del cono (valor medio de cuatro medidas). La experiencia se repite 10 veces y se calcula el valor de α , la desviación (s) y el coeficiente de variación (CV), que ha de ser inferior al 5 % para considerar el método como reproducible.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Cuando se emplea el método del embudo fijo el polvo no cae libremente, por lo que no se han podido obtener medidas de ángulo de reposo. Con el método del cilindro se obtienen los resultados de la tabla LXI. El valor de ángulo de reposo obtenido, superior a 45° , con coeficiente de variación inferior al 5 %, nos permite clasificar al Lobuprofeno como un material cohesivo, lo cual está de acuerdo con el apelmazamiento que sufre en el método del embudo fijo, así como con los datos obtenidos en el capítulo dedicado al estudio de densidad, porosidad e índice de Carr, con un valor para el mismo de 31,79 %, que según la tabla LX se corresponde con una fluidez pobre. Será necesario, por lo tanto, influir sobre los parámetros que nos permitan modificar esta propiedad con el fin de mejorarla cuando se realicen los estudios de formulación en forma de comprimidos, ya que es previsible encontrar grandes dificultades para la preparación de formas por compresión directa, que sólo será posible llevar a cabo con el uso de los excipientes adecuados.

% Compresibilidad (Índice de Carr)	Flujo
5-15	Excelente
12-16	Bueno
18-21	Aceptable
23-35	Pobre
33-38	Muy pobre
> 40	Muy, muy pobre

Tabla LX. Relación entre el índice de Carr de compresibilidad y la fluidez de un material⁽³²⁾.

Diámetro medio (cm)	tg α	α (°)
5,27	1,1385	48,71
5,27	1,1385	48,71
5,52	1,0869	47,38
5,30	1,1321	48,54
5,20	1,1538	49,08
5,15	1,1650	49,36
5,45	1,1009	47,75
5,35	1,1215	48,28
5,62	1,0676	46,87
5,30	1,1321	48,54
- \bar{x} = 48,32 s = 0,7726 CV = 1,60 %		

Tabla LXI. Determinación del ángulo de reposo de
Lobuprofeno por el método del cilindro.

3.2. CARACTERISTICAS DE ESTABILIDAD

Los estudios de estabilidad en la fase de preformulación permiten obtener conclusiones sobre las condiciones óptimas de almacenamiento y manipulación de la materia prima, así como de los excipientes más adecuados para la obtención de una forma farmacéutica óptima⁽¹²⁴⁻¹²⁶⁾; así mismo, constituyen la base para el planteamiento de los estudios definitivos de estabilidad en el producto terminado.

Para poder cubrir estos objetivos en un tiempo relativamente corto, normalmente se recurre a estudios acelerados en condiciones forzadas de humedad, temperatura, luz, etc.⁽¹²⁷⁻¹³⁷⁾. Si además se quiere establecer un período de validez para la materia prima, es necesario realizar los estudios a tiempo real en condiciones normales de almacenamiento.

De los datos fisicoquímicos obtenidos hasta el momento se desprende que la forma farmacéutica más viable para el Lobuprofeno es la de comprimidos, por ello se han realizado los estudios de estabilidad pensando en el desarrollo de esta forma.

Siguiendo este criterio es interesante llevar a cabo estudios de estabilidad en disolución en función del pH, con el fin de comprobar la inalterabilidad del principio activo a lo largo de todo el tracto gastro-intestinal, pero dadas las características de solubilidad del Lobuprofeno en medio acuoso, esto no ha sido posible.

Así mismo, resulta interesante determinar la estabilidad en disolventes de granulación, ya que uno de los métodos más usuales de preparación de comprimidos está basado en la granulación por vía húmeda⁽¹³⁸⁻¹⁴⁰⁾, proceso por el cual el principio activo mezclado con excipientes se somete a un amasado con adición de aglutinantes disueltos en agua, disolventes orgánicos o mezclas de ambos. La masa, con alto contenido de agente humectante, y una vez granulada, se seca a temperaturas elevadas, durante un período de tiempo que puede oscilar entre 1 y 3 días, según el contenido final de humedad que se exija. Al ser la reacción de hidrólisis una de las posibles vías de degradación del Lobuprofeno, y al estar favorecida por las condiciones anteriormente expuestas, se plantea el estudio de estabilidad del Lobuprofeno en disolventes de granulación, con el fin de elegir el más apropiado.

La mayoría de los agentes aglutinantes son solubles en agua, no obstante, en el caso de principios activos susceptibles de sufrir una hidrólisis se pueden emplear otros disolventes, como son los alcoholes, cloroformo, cloruro de metileno, acetona o mezclas de los mismos entre sí o con agua. En el presente estudio se seleccionan como disolventes: metanol, isopropanol, etanol, mezcla de agua/etanol (50/50, v/v) y acetona. Se elige la acetona a pesar de su difícil manipulación en procesos industriales (temperatura de inflamación de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) debido al bajo valor del coeficiente de solubilidad del Lobuprofeno en la misma ($C_s = 1,8\%$) frente a su solubilidad en cloruro de metileno ($C_s = 23\%$). Se selecciona la temperatura de $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ por ser de uso habitual en los procesos de secado.

Con el fin de determinar la fotolabilidad de la materia prima, es conveniente realizar, en primer lugar, estos ensayos en disolución, de modo que, según los resultados obtenidos, se considere la necesidad de realizar dichos estudios en estado sólido.

La fotodegradación es un importante factor limitante en la estabilidad de una molécula. La energía de una radiación es inversamente proporcional a su longitud de onda (Planck), de forma que el nivel energético del UV es

superior al del visible y éste al del IR, independientemente de la temperatura; por ello, la radiación UV es la causa de muchas reacciones de degradación.

Al exponer a las moléculas a una radiación electromagnética sufren un incremento de su estado energético, pudiendo ser causa de descomposición, de retención o transferencia de energía, de conversión de la radiación en calor o de emisión de la radiación absorbida a una nueva longitud de onda. La cinética de las reacciones fotoquímicas suele ser muy compleja, ya que se ve afectada por numerosas variables, como son la intensidad y longitud de onda de la radiación incidente y el tamaño, forma, composición y color de los envases. Un elevado número de moléculas que sufren procesos de fotodegradación, siguen la vía radicalica, originándose un oscurecimiento de los productos. Existen numerosos estudios que demuestran la fotolabilidad de distintos principios activos⁽¹⁴¹⁻¹⁴⁵⁾, siendo necesario en estos casos protegerlos de la luz, mediante un adecuado embalaje y condiciones de almacenamiento y manipulación.

En el presente trabajo se ha estudiado la influencia de la radiación sobre las muestras en los siguientes campos del espectro:

- Iluminación artificial habitual en laboratorio: abarca todo el espectro de luz visible (380-780 nm).
- Radiaciones ultravioleta poco absorbidas por la atmósfera terrestre (UV-A), con longitudes de onda de 320 a 380 nm.
- Radiaciones ultravioleta de alto poder germicida (UV-C), con longitudes de onda menores a 280 nm.

El estudio de la influencia de la temperatura y de la humedad sobre la materia prima se lleva a cabo en estado sólido.

En la estabilidad del sólido⁽⁹⁾ influyen propiedades fisicoquímicas del principio activo, tales como la solubilidad, pK_a , punto de fusión, forma cristalina y contenido en humedad de equilibrio. El mecanismo de degradación, en estos casos, es generalmente complejo y difícil de dilucidar, aumentando la complejidad el que los factores causa de las reacciones de degradación interaccionen entre sí. De esta forma, por ejemplo, calor y humedad pueden catalizar reacciones de oxidación o de hidrólisis. Es por ello por lo que es conveniente incorporar estudios que combinen ambos factores. Las directrices de la FDA para los estudios de estabilidad (Anexo II)

hacen referencia al uso de ensayos acelerados a 40 °C y 75 % de humedad relativa (H.R.), condiciones que han sido elegidas para la realización de este trabajo. Con respecto a los ensayos acelerados a elevadas temperaturas sin control de la H.R., no existen datos en la bibliografía que establezcan unos valores determinados para aquella variable, dependiendo en cada caso de las características del principio activo a estudiar, así como del criterio del investigador que realice el estudio. En el caso que nos ocupa se ha elegido la temperatura de 50 °C.

El período de validez de la materia prima se establece mediante los estudios en condiciones normales de almacenamiento a 22 °C y 65 % H.R.

El desarrollo de los estudios de estabilidad se completa con los ensayos de compatibilidad principio activo-excipientes.

En la formulación de comprimidos se incluyen excipientes que actúan como diluyentes, disgregantes, aglutinantes y lubricantes. Se han de analizar mezclas del principio activo con, al menos, dos excipientes de cada tipo.

Para la realización del presente trabajo han sido seleccionados los siguientes: como aglutinantes la goma arábica, el Kollidon K-30 (povidona con un valor medio de peso molecular de 45.000) y la gelatina; como diluyentes, el fosfato bicálcico anhidro, la lactosa monohidrato, el almidón de maíz y el Avicel PH 101 (celulosa microcristalina), gozando también estos dos últimos de propiedades disgregantes; como lubricantes el estearato magnésico, el talco y el laurilsulfato sódico. Además de los excipientes expuestos se ha estudiado la mezcla de Lobuprofeno con Kollidon K-25 (povidona con un valor medio de peso molecular de 29.000), por su utilidad para incrementar la solubilidad de algunas sustancias activas, bien por mezcla directa con las mismas o bien por la formación de coprecipitados y preparados atomizados.

Las proporciones en que principio activo y excipiente intervienen en las mezclas son distintas según los diferentes autores^(10,146) y dependen del criterio de la persona que programa el ensayo, no obstante, normalmente, el porcentaje de sustancia activa es superior al de excipiente cuando éste tiene la función de lubricante, mientras que en mezclas con el resto de excipientes, el principio activo se encuentra en menor proporción que aquéllos.

La preparación de las muestras también es diferente según los distintos autores. Algunos indican la preparación de una mezcla íntima de las sustancias sólidas; en otros casos se señala la adición a esta mezcla de cierta cantidad de humedad, por ej., 5 % de agua; también es posible preparar granulados, coprecipitados o liofilizados. En nuestro caso hemos procedido a preparar las muestras por granulación húmeda con los excipientes cuya función es la de aglutinante y a mezclar en seco el principio activo con el resto de los excipientes.

A la hora de programar las temperaturas y humedades del ensayo, es necesario considerar que algunos excipientes son inestables por sí mismos en condiciones muy extremas, así por ejemplo, algunos lubricantes funden a 50 °C. Para la realización de este estudio hemos seleccionado las mismas condiciones que fueron establecidas en el estudio de la materia prima en estado sólido.

3.2.1. METODO

3.2.1.1. Preparación de muestras y condiciones de almacenamiento

a - Estabilidad en disolventes de granulación

Se preparan 5 disoluciones de Lobuprofeno en metanol, agua/etanol (50/50, v/v), etanol, isopropanol y acetona, a una concentración de 10 mg/ml y se envasan en viales de vidrio; una vez capsulados se almacenan en la oscuridad a una temperatura constante de 45 °C durante 4 días.

b - Influencia de la luz sobre el Lobuprofeno en disolución

El ensayo se realiza sobre muestras de una solución de Lobuprofeno en agua/etanol (50/50, v/v) a una concentración de 1 mg/ml, envasadas en tubos de cuarzo de 20 cc de capacidad, cerrados herméticamente y expuestos (a 13 cm de distancia) a tres fuentes de irradiación distintas que emiten luz de las siguientes características:

- Espectro de emisión de 400 a 700 nm de longitud de onda.
- Emisión máxima a 366 nm (UV-A).
- Emisión máxima a 254 nm (UV-C).

La duración del ensayo es de 6, 8 y 55 días para las longitudes de onda de 366, 254 y 400-700 nm, respectivamente.

c - Estabilidad del Lobuprofeno al estado sólido

La influencia de la luz se estudia sobre muestras de Lobuprofeno acondicionadas en placas Petri con un espesor, para cada muestra, no superior a 3 mm, y expuestas a las mismas fuentes de irradiación empleadas para el estudio de fotolabilidad del Lobuprofeno en disolución. La duración del ensayo es de 16, 43 y 91 días para las longitudes de onda de 366, 254 y 400-700 nm, respectivamente.

Para la realización de los estudios de la influencia de la temperatura, la muestra de Lobuprofeno se acondiciona en viales de vidrio topacio capsulados herméticamente y se mantiene a 50 °C en estufa termostaticada durante 15 meses.

Los estudios de la influencia de la temperatura combinada con la humedad se llevan a cabo sobre una muestra de Lobuprofeno acondicionada en un cristizador con un espesor de muestra no superior a 0,5 mm, y mantenida en cámara climática a 40 °C y 75 % de H.R. durante 2 meses.

El período de validez a temperatura ambiente se establece con el estudio realizado sobre una muestra de Lobuprofeno mantenida en bolsa de plástico dentro de un bidón de cartón (forma habitual de almacenar la materia prima), durante 62 meses a 22 °C y 65 % H.R.

d - Compatibilidad con excipientes

Los excipientes seleccionados, así como su porcentaje en la mezcla con el Lobuprofeno, son los indicados en la tabla LXXII.

Con los excipientes con función aglutinante: goma arábiga, gelatina y Kollidon K-30 se prepara un granulado empleando una mezcla de agua/etanol (50/50, v/v) como líquido humectante, tamizando la masa húmeda por 0,8 mm de luz y secándola durante 48 h a 45 °C.

Con el resto de los excipientes se preparan mezclas en seco con el Lobuprofeno.

Las condiciones de almacenamiento son las siguientes:

- 1 - Muestras envasadas en viales de vidrio sellados y mantenidas, en estufa, a 50 °C durante 5 meses.
- 2 - Muestras depositadas en cristalizadores, con un espesor de muestra de 0,5 mm y mantenidas, en

cámara climática, a 40 °C y 75 H.R. durante 2 meses.

- 3 - Muestras envasadas en bolsa de plástico y mantenidas, en sala climatizada, a 22 °C y 65 % H.R. durante 30 meses.

3.2.1.2. Estabilidad física

En el estudio de compatibilidad con excipientes se procede a la observación visual de las muestras, con el fin de detectar cambios de color que pudieran ser indicativos de alguna reacción de degradación.

Así mismo, dentro del mismo estudio, en las muestras correspondientes al ensayo llevado a cabo a 40 °C y 75 % H.R., se determina, por diferencia de peso, el porcentaje de agua captada a lo largo del tiempo de duración del ensayo.

3.2.1.3. Estabilidad química. Análisis de las muestras y tratamiento de datos

A intervalos de tiempo preestablecidos en función de cada ensayo, se extraen las muestras y se valoran por RP-

HPLC en las condiciones indicadas en el estudio del análisis cuantitativo.

Se determina si existe una correlación negativa estadísticamente significativa entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de principio activo, esto es, si $r_{(exp.)} > r_{(tab.)}$ para $n-2$ grados de libertad y una probabilidad del 95 %.

En caso positivo se determina el modelo cinético al que mejor se ajustan los resultados experimentales (orden 0 u orden 1), realizando también el análisis estadístico de la ecuación que define el proceso. La intensidad de la degradación se evalúa a partir de la constante de velocidad correspondiente.

Para facilitar los cálculos se emplea el programa de ordenador SECEM (Anexo I).

3.2.2. RESULTADOS Y COMENTARIOS

a - Estabilidad en disolventes de granulación

En la tabla LXII se encuentran recogidos los valores medios del análisis de las 5 muestras preparadas. A la vista de los resultados se observa una escasa degradación

del Lobuprofeno, que no llega a alcanzar un 3 % a los 4 días de almacenamiento a 45 °C.

Los coeficientes de correlación obtenidos son significativos para una probabilidad del 95 %; no obstante, la escasa diferencia entre ellos no nos permite definir si la cinética de degradación es de orden cero u orden uno.

En la tabla LXIII se recopilan los valores de los parámetros de la ecuación de la recta, suponiendo una cinética de degradación de primer orden, y el correspondiente valor de la constante de velocidad de degradación que, como era de esperar, es bajo. La figura 28 representa a este modelo cinético.

La máxima degradación se obtiene empleando agua/etanol (50/50) como disolvente, seguramente producida por una reacción de hidrólisis que se ve favorecida en este caso por la presencia de agua en el medio, pudiendo comprobarse por HPLC la aparición de Cloroalcanol, como producto de degradación, correspondiente en el cromatograma que se presenta en la figura 29, a un pico de tiempo de retención de 1,38 min.

Puesto que los procesos de secado no suelen superar períodos de 3 días y teniendo en cuenta que con las

cantidades de disolvente empleadas en la preparación del granulado sólo se producirán disoluciones puntuales del principio activo dada la baja solubilidad e hígrosco-picidad del mismo, parece posible el empleo de cualquiera de los disolventes estudiados para el proceso de granulación.

b - Influencia de la luz sobre el Lobuprofeno en disolución

En la tabla LXIV se encuentran recogidos los valores de concentración de principio activo, expresados en forma de porcentaje respecto al valor inicial, obtenidos en la valoración de las muestras de Lobuprofeno expuestas a las tres fuentes de irradiación seleccionadas y envasadas en tubos de cuarzo.

Los valores de los coeficientes de correlación de las rectas correspondientes asumiendo una cinética de orden cero o de orden uno no presentan diferencias significativas que permitan definir una u otra cinética.

En la tabla LXV se presentan los parámetros, así como la ecuación que define la degradación del Lobuprofeno suponiendo una cinética de primer orden, cuyo modelo queda representado en la figura 30.

En general, se observa una fotolabilidad elevada del Lobuprofeno en disolución, sobre todo a las longitudes de onda correspondientes al UV.

Estos resultados hacen necesario confirmar la influencia de las radiaciones sobre la materia prima en estado sólido.

c - Estabilidad del Lobuprofeno al estado sólido

El estudio de la influencia de la luz sobre la materia prima al estado sólido proporciona unos resultados que, expresados en forma de porcentaje respecto al contenido inicial, se encuentran recogidos en la tabla LXVI, en la que se indican también los valores de los coeficientes de correlación de las rectas correspondientes a una cinética de orden cero y de primer orden, siendo todos significativos para una $p = 0,05$. Las diferencias entre estos coeficientes de correlación no permiten definir una u otra cinética, no obstante, para los cálculos posteriores se supone el orden uno.

Los parámetros y la ecuación que definen la cinética supuesta se recogen en la tabla LXVII y su representación en la figura 31.

Al igual que ocurría en los estudios en disolución, la longitud de onda de 366 nm es la que produce una máxima degradación, con un valor de K de $7,32 \times 10^{-3}$ días⁻¹. Se observa, con esta radiación, un oscurecimiento de la muestra a partir de los 6 días de exposición, que es debido a la parte de Cloroalcanol de la molécula, tal y como se comprobó sometiendo a unas muestras de Ibuprofeno y Cloroalcanol al efecto de la misma radiación, provocándose un oscurecimiento en este último, que no se produjo en el Ibuprofeno.

El efecto de las radiaciones de longitudes de onda de 254 nm y 400-700 nm es menos agresivo, obteniéndose unas constantes de velocidad de degradación de $1,32 \times 10^{-4}$ días⁻¹ y $1,29 \times 10^{-4}$ días⁻¹ respectivamente.

Este hecho se manifiesta también en los cromatogramas obtenidos por RP-HPLC, figura 32, en los que se puede observar, para el mismo tiempo de exposición, la aparición de un mayor número de picos de degradación en la muestra sometida a la acción de la radiación de 366 nm frente a los picos de degradación obtenidos con la exposición a las otras longitudes de onda del estudio de 254 y 400-700 nm.

A la vista de los resultados obtenidos es necesario tomar precauciones con el fin de evitar la incidencia de

aquellas radiaciones que contengan en su espectro la longitud de onda de 366 nm (luz solar directa o difusa), tanto en la manipulación como en el almacenamiento del Lobuprofeno, sobre todo durante largos períodos de tiempo.

En las tablas LXVIII y LXIX se encuentran los valores del contenido en principio activo en función del tiempo para los estudios realizados con el Lobuprofeno al estado sólido mantenido a 50 °C y 40 °C con 75 % H.R., respectivamente. En ambos casos, la correlación entre las dos variables estudiadas no es significativa para el tiempo que han durado los ensayos, lo que indica que la molécula es muy estable tanto frente a la temperatura como frente a la temperatura combinada con la humedad, lo cual se confirma con los cromatogramas obtenidos por RP-HPLC, en los que se observa, para la muestra mantenida a 50 °C durante 450 días (figura 33), la aparición de un pico, a t_r de 1,97 min, con un área de 4 mAus frente a los 3064 mAus del pico correspondiente al Lobuprofeno. En la muestra almacenada a 40 °C y 75 % H.R. durante 56 días (figura 34), no se observa la aparición de ningún pico secundario.

Los resultados obtenidos en el estudio realizado sobre la materia prima al estado sólido, mantenida durante 5 años en condiciones normales de almacenamiento (22 °C y

65 % H.R.), se encuentran reflejados en la tabla LXX. Los coeficientes de correlación son significativos para cualquiera de las dos cinéticas supuestas, pero no se observa una diferencia significativa entre ambos valores que nos permita definir un orden cero o uno.

Los cálculos siguientes para la obtención del valor de la constante de degradación se realizan sobre la base de una cinética de primer orden obteniéndose los resultados que se muestran en la tabla LXXI. En la figura 35 se representa este modelo cinético. La figura 36 corresponde al cromatograma, obtenido por RP-HPLC, de la muestra de Lobuprofeno extraída a los 60 meses. Se observa la aparición de dos picos de t_r 0,786 y 1,330 min con unas áreas que corresponden respectivamente al 0,084 y 0,131 % del área del Lobuprofeno.

Los resultados obtenidos, con la aparición al cabo de cinco años de almacenamiento en condiciones normales, de productos de degradación en un porcentaje que no supera el 0,25 %, confirma la excelente estabilidad que presenta el Lobuprofeno y nos permite establecer, para la materia prima al estado sólido, un período de validez de al menos cinco años.

d - Compatibilidad con excipientes**Estabilidad física**

El porcentaje de agua absorbido por las muestras mantenidas a 40 °C y 75 % H.R. se muestra en la tabla LXXII y su representación en las figuras 37 y 38, donde se observa que las mezclas con mayor capacidad de captación de agua son las que contienen laurilsulfato sódico y Kollidón K-25 como excipientes. Es necesario tener en consideración este hecho a la hora de formular comprimidos con estos excipientes en elevadas concentraciones, por los posibles problemas que se pueden presentar en cuanto a la variación, con el tiempo, de las características físicas de dichos comprimidos.

En la observación visual de las muestras se aprecia la aparición de una tonalidad rosácea en la mezcla de Lobuprofeno con laurilsulfato sódico a los 125 días en la muestra mantenida a 50 °C y a los 42 días en la muestra mantenida a 40 °C y 75 % H.R.

Estabilidad química

En las tablas LXXIII, LXXIV y LXXV se presentan los resultados del contenido de principio activo inalterado,

expresado como porcentaje del valor inicial, en función del tiempo, así como los correspondientes coeficientes de correlación, para las muestras mantenidas a 50 °C, 40 °C y 75 % H.R. y 22 °C y 65 % H.R., respectivamente.

En aquellos casos en que los valores de r para la relación concentración-tiempo han sido significativos, se calculan los coeficientes de correlación suponiendo una cinética de orden 1. Al no existir diferencias entre los coeficientes de correlación que permitan definir una u otra cinética, se calculan los parámetros que definen el orden 1, cuyos valores se encuentran reflejados en las tablas LXXVI a LXXVIII. El modelo seleccionado se representa en las figuras 39 a 41.

En las figuras 42 a 45 se recogen los cromatogramas de las muestras obtenidas a tiempo final en cada una de las condiciones estudiadas. Los tiempos de retención y las áreas de los picos que aparecen en estos cromatogramas se presentan en las tablas LXXIX a LXXXI.

En todos los casos se observa la aparición de un pico de degradación a tiempo de retención de 1,28-1,29 min en las muestras almacenadas a 50 °C y 22 °C y de 1,46-1,48 min en las muestras almacenadas a 40 °C y 75 % H.R., que corresponde al Cloroalcanol (los tiempos de retención

varían, entre otros motivos, por el cambio de lote de la columna empleada), y que es el que presenta mayor área después del Lobuprofeno.

El resto de los picos corresponden a compuestos de degradación no identificados, no obstante, en ningún caso, la suma total del área de estos picos supera un 0,3 % del área correspondiente al Lobuprofeno. Esto nos reafirma en que la vía mayoritaria de degradación es la hidrolítica.

En los estudios acelerados de estabilidad resulta ser el laurilsulfato sódico el excipiente con el que se obtiene una mayor degradación, no obstante, los valores de t_{90} obtenidos en el estudio en condiciones normales de almacenamiento, para aquellos excipientes en los que se observa una correlación significativa entre concentración y tiempo, son tan elevados que se puede emplear cualquiera de ellos en la formulación de los comprimidos.

Disolvente Tiempo (días)		% de la conc. inicial				
		Metanol	Agua/etanol 50/50	Etanol	Isopropanol	Acetona
0		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
1		99,96	99,35	99,88	99,92	99,65
2		99,63	98,87	99,79	99,83	99,37
3		99,34	98,16	99,62	99,76	98,91
4		99,04	97,63	99,47	99,60	98,51
r (orden 0)		-0,9814	-0,9987	-0,9942	-0,9876	-0,9967
r (orden 1)		-0,9801	-0,9987	-0,9941	-0,9875	-0,9966

Tabla LXII. Degradación del Lobuprofeno en disolución con distintos disolventes a 45 °C.

ORDEN 1 $\ln C = \ln C_0 - Kt$				
Disolvente	C_0 (%)	s (C_0)	K (días ⁻¹)	s (K)
Metanol	100,10	0,12	$2,55 \times 10^{-3}$	$5,10 \times 10^{-4}$
Agua/etanol (50/50)	99,99	$6,71 \times 10^{-2}$	$6,00 \times 10^{-3}$	$2,74 \times 10^{-4}$
Etanol	100,02	$6,45 \times 10^{-2}$	$1,32 \times 10^{-3}$	$2,63 \times 10^{-4}$
Isopropanol	100,01	$2,22 \times 10^{-2}$	$9,62 \times 10^{-4}$	$9,07 \times 10^{-5}$
Acetone	100,03	0,11	$3,75 \times 10^{-3}$	$4,52 \times 10^{-4}$

Tabla LXIII. Cinética de degradación del Lobuprofeno a 45 °C en disolución con distintos disolventes.

		% de la Conc. inicial		
		254	366	400-700
λ (nm)	Tiempo (días)			
	0	100,00	100,00	100,00
	1	-	91,60	-
	2	97,55	79,44	97,86
	3	87,77	76,92	95,47
	4	83,97	69,00	-
	6	67,16	55,36	95,20
	8	53,02	-	-
	9	-	-	94,45
	16	-	-	89,26
	24	-	-	89,09
	31	-	-	87,72
	38	-	-	86,09
	49	-	-	84,15
	55	-	-	81,90
	r (orden 0)	-0,9751	-0,9902	-0,9644
	r (orden 1)	-0,9664	-0,9944	-0,9700

Tabla LXIV. Degradación del Lobuprofeno, en disolución en etanol-agua (50-50), por efecto de la luz.

ORDEN 1 $\ln C = \ln C_0 - Kt$				
λ (nm)	C_0 (%)	s (C_0)	K (días ⁻¹)	s (K)
254	109,45	5,59	$8,28 \times 10^{-2}$	$1,01 \times 10^{-2}$
366	100,04	1,74	$9,66 \times 10^{-2}$	$5,25 \times 10^{-3}$
400-700	97,24	0,74	$3,21 \times 10^{-3}$	$2,68 \times 10^{-4}$

Tabla LXV. Cinética de degradación del Lobuprofeno, por efecto de la radiación, en disolución en etanol-agua (50-50).

		% del Contenido inicial		
		254	366	400-700
λ (nm)	Tiempo (días)			
	0	100,00	100,00	100,00
	1	-	97,58	-
	2	-	-	100,00
	3	-	-	99,95
	4	99,93	-	-
	6	-	96,35	99,90
	8	99,94	-	-
	9	-	95,61	99,90
	11	99,79	-	-
	16	-	87,61	99,87
	18	99,87	-	-
	24	-	-	99,86
	29	-	-	-
	35	99,65	-	-
	38	-	-	99,87
	43	99,47	-	-
	49	-	-	99,76
	55	-	-	99,78
	91	-	-	98,44
	r (orden 0)	-0,8549	-0,9517	-0,8348
	r (orden 1)	-0,8547	-0,9488	-0,8342

Tabla LXVI. Degradación del Lobuprofeno, en estado sólido, por efecto de la luz.

ORDEN 1 $\ln C = \ln C_0 - Kt$					
λ (nm)	C_0 (%)	s (C_0)	K (días ⁻¹)	s (K)	t_{99} (días)
254	99,99	$7,55 \times 10^{-2}$	$1,32 \times 10^{-4}$	$3,21 \times 10^{-5}$	75
366	99,91	1,22	$7,32 \times 10^{-3}$	$1,41 \times 10^{-3}$	1,2
400-700	100,10	0,10	$1,29 \times 10^{-4}$	$2,89 \times 10^{-5}$	85

Tabla LXVII. Cinética de degradación del Lobuprofeno, en estado sólido, por efecto de la radiación.

Tiempo (días)	% del Contenido inicial
0	100,00
13	99,90
34	99,73
63	100,00
87	100,00
125	100,00
154	99,78
183	99,87
239	99,84
359	99,82
450	99,87

$r = -0,3345$ ($p > 0,1$)

Tabla LXVIII. Degradación del Lobuprofeno en estado sólido por efecto de la temperatura. Muestra mantenida a 50 °C.

Tiempo (días)	% del Contenido inicial
0	100,00
7	99,92
14	99,91
21	100,00
28	100,00
35	99,90
42	100,00
49	100,00
56	100,00

$r = 0,3302$ ($p > 0,1$)

Tabla LXIX. Degradación del Lobuprofeno en estado sólido por efecto de la temperatura y de la humedad. Muestra mantenida a 40 °C y 75 % H.R.

Tiempo (meses)	% del Contenido inicial
0	100,00
12	99,95
24	99,92
30	99,94
36	99,76
42	99,81
48	99,88
54	99,80
60	99,72

r (orden 0) = -0,8491
r (orden 1) = -0,8490

Tabla LXX. Degradación del Lobuprofeno en estado sólido. Muestra mantenida a 22 °C y 65 % H.R.

ORDEN 1 $\ln C = \ln C_0 - Kt$	
C_0 (%)	100,00
$s(C_0)$	$6,02 \times 10^{-2}$
K (meses ⁻¹)	$4,14 \times 10^{-5}$
$s(K)$	$1,55 \times 10^{-5}$
t_{99} (meses)	243

Tabla LXXI. Cinética de degradación del Lobuprofeno en estado sólido mantenido a 22 °C y 65 % H.R.

Excipiente	Porcentaje de excipiente en la mezcla	% de agua absorbida								
		5 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d	49 d	56 d
Goma arábica	2	0	0	0,078	0,114	0,117	0,123	0,187	0,197	0,180
Kollidón K-30	2	0	0,039	0,059	0,103	0,106	0,149	0,166	0,189	0,232
Gelatina	2	0	0,069	0,092	0,123	0,143	0,152	0,186	0,198	0,185
Estearato magnésico	25	0,115	0,153	0,148	0,162	0,159	0,145	0,155	0,119	0,174
Talco	25	0	0,092	0,259	0,390	0,424	0,435	0,498	0,607	0,714
Laurilsulfato sódico	25	2,946	3,069	3,072	3,525	3,672	3,815	4,209	4,824	5,707
Kollidón K-25	75	12,710	13,840	15,080	15,940	16,110	16,120	16,170	16,170	16,230
Fosfato bicálcico anh	75	0,017	0,031	0	0	0	0	0	0	0,031
Lactosa monohidrato	75	0,381	0,434	0,595	0,765	0,866	0,899	0,950	1,162	1,215
Almidón maíz	75	1,112	1,226	1,278	1,309	1,334	1,392	1,392	1,424	1,812
Avicel PH 101	75	0,424	0,477	0,638	0,818	0,889	0,950	1,093	1,205	1,358

d = días

Tabla LXXII. Estudio de la compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Porcentaje de agua absorbida por las distintas muestras mantenidas a 40 °C y 75 % H.R.

Excipiente	% de la cantidad inicial							r
	0 d	13 d	34 d	63 d	87 d	125 d	154 d	
Goma arábica	100,00	100,00	99,88	100,00	100,00	100,00	99,95	-0,0138
Kollidón K-30	100,00	100,00	99,95	100,06	99,62	100,00	99,87	-0,3807
Gelatina	100,00	100,00	99,88	100,00	100,00	100,00	99,93	-0,1158
Estearato magnésico	100,00	99,96	99,87	99,76	99,74	99,72	99,59	-0,9670
Talco	100,00	100,00	99,84	100,00	100,00	100,00	99,88	-0,1104
Laurilsulfato sódico	100,00	99,85	99,38	98,96	97,96	96,97	95,90	-0,9902
Kollidón K-25	100,00	99,90	99,92	99,82	99,87	99,68	99,56	-0,9431
Fosfato bicálcico anh	100,00	99,82	99,68	99,63	99,55	99,52	99,34	-0,9471
Lactosa monohidrato	100,00	100,00	100,00	99,87	100,00	100,00	99,82	-0,5583
Almidón maíz	100,00	99,92	99,75	99,66	99,71	99,73	99,58	-0,8386
Avicel PH 101	100,00	99,80	99,53	99,57	99,45	99,57	99,23	-0,8459

d = días

Valor de r significativo (para n-2 grados de libertad y p = 0,05) :0,754.

Tabla LXXIII. Compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes.
Muestras mantenidas a 50 °C.

Excipiente	% de la cantidad inicial									
	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d	49 d	56 d	r
Goma arábica	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	99,94	-0,5476
Kollidón K-30	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	99,94	100,00	100,00	-0,2738
Gelatina	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	99,88	100,00	99,94	-0,5164
Estearato magnésico	100,00	99,43	99,38	99,16	98,91	98,79	98,27	98,19	97,72	-0,9853
Talco	100,00	99,86	99,89	100,00	99,87	99,92	99,85	99,86	99,73	-0,6203
Laurilsulfato sódico	100,00	99,63	99,36	98,89	98,42	97,93	96,94	96,49	95,88	-0,9892
Kollidón K-25	100,00	99,71	99,65	99,21	99,12	99,12	98,85	98,35	97,79	-0,9628
Fosfato bicálcico anh	100,00	99,82	99,78	99,75	99,74	99,74	99,92	99,74	99,75	-0,4705
Lactosa monohidrato	100,00	99,88	99,89	100,00	99,90	99,79	99,91	99,90	99,87	-0,4448
Almidón maíz	100,00	99,87	99,90	100,00	99,88	100,00	99,84	99,75	99,78	-0,6585
Avicel PH 101	100,00	99,73	99,59	99,62	99,24	98,86	98,26	97,79	97,68	-0,9688

d = días

Valor de r significativo (para n-2 grados de libertad y p = 0,05): 0,666.

Tabla LXXIV. Compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Muestras mantenidas a 40 °C y 75 % H.R.

Excipiente	% de la cantidad inicial				
	0 m	12 m	24 m	30 m	r
Goma arábica	100,00	100,00	100,00	99,89	-0,6765
Kollidón K-30	100,00	99,95	99,90	99,96	-0,8132
Gelatina	100,00	100,00	99,92	99,96	-0,7458
Estearato magnésico	100,00	99,91	99,79	99,73	-0,9975
Talco	100,00	99,88	100,00	99,81	-0,5400
Laurilsulfato sódico	100,00	99,95	99,84	99,79	-0,9863
Kollidón K-25	100,00	100,00	100,00	99,91	-0,6765
Fosfato bicálcico anh	100,00	99,92	99,92	99,73	-0,8486
Lactosa monohidrato	100,00	99,80	100,00	99,87	-0,2154
Almidón maíz	100,00	99,79	100,00	99,87	-0,1962
Avicel PH 101	100,00	99,81	99,71	99,67	-0,9824

m = meses

Valor de r significativo (para n-2 grados de libertad y p = 0,05) :0,950.

Tabla LXXV. Compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Muestras mantenidas a 22 °C y 65 H.R.

Excipiente	ORDEN 1 $\ln C = \ln C_0 - Kt$					
	r	C ₀ (%)	s (C ₀)	K (días ⁻¹)	s (K)	t ₉₀ (días)
Estearato magnésico	-0,9671	99,97	4,45 x 10 ⁻²	2,44 x 10 ⁻⁵	5,16 x 10 ⁻⁶	4303
Laurilsulfato sódico	-0,9896	100,26	14,14 x 10 ⁻²	2,72 x 10 ⁻⁴	1,63 x 10 ⁻⁵	397
Kollidón K-25	-0,9430	99,99	4,33 x 10 ⁻²	2,49 x 10 ⁻⁵	5,02 x 10 ⁻⁶	4215
Fosfato bicálcico anh	-0,9474	99,89	4,89 x 10 ⁻²	3,54 x 10 ⁻⁵	5,67 x 10 ⁻⁶	2942
Almidón maíz	-0,8388	99,91	4,58 x 10 ⁻²	2,14 x 10 ⁻⁵	5,31 x 10 ⁻⁶	4874
Avicel PH 101	-0,8461	99,84	7,76 x 10 ⁻²	3,64 x 10 ⁻⁵	9,01 x 10 ⁻⁶	2845

Tabla LXXVI. Cinética de degradación del Lobuprofeno en el estudio de compatibilidad con excipientes. Muestras mantenidas a 50 °C.

ORDEN 1 $\ln C = \ln C_0 - Kt$						
Excipiente	r	C ₀ (%)	s (C ₀)	K (días ⁻¹)	s (K)	t ₉₀ (días)
Estearato magnésico	-0,9852	99,90	7,03 x 10 ⁻²	3,72 x 10 ⁻⁴	2,11 x 10 ⁻⁵	281
Laurilsulfato sódico	-0,9886	100,30	14,40 x 10 ⁻²	7,70 x 10 ⁻⁴	4,31 x 10 ⁻⁵	141
Kollidón K-25	-0,9621	100,07	12,82 x 10 ⁻²	3,51 x 10 ⁻⁴	3,84 x 10 ⁻⁵	302
Avicel PH 101	-0,9683	100,21	16,23 x 10 ⁻²	4,46 x 10 ⁻⁴	4,86 x 10 ⁻⁵	241

Tabla LXXVII. Cinética de degradación del Lobuprofeno en el estudio de compatibilidad con excipientes. Muestras mantenidas a 40 °C y 75 % H.R.

Excipiente	ORDEN 1 $\ln C = \ln C_0 - Kt$					
	r	C_0 (%)	s (C_0)	K (meses ⁻¹)	s (K)	t_{90} (meses)
Estearato magnésico	-0,9975	100,01	$3,90 \times 10^{-2}$	$9,08 \times 10^{-5}$	$1,94 \times 10^{-5}$	1161
Laurilsulfato sódico	-0,9863	100,01	$10,30 \times 10^{-2}$	$7,18 \times 10^{-5}$	$5,12 \times 10^{-5}$	1468
Avicel PH 101	-0,9825	99,97	$8,33 \times 10^{-2}$	$1,09 \times 10^{-4}$	$4,14 \times 10^{-5}$	965

Tabla LXXVIII. Cinética de degradación del Lobuprofeno en el estudio de compatibilidad con excipientes. Muestras mantenidas a 22 °C y 65 % H.R.

Excipiente	pico	t _R (min)	Area (mAus)
Estearato de magnesio	1	0,825	2,78
	2	1,283	5,95
	3	1,968	3,08
	4	2,282	2909,00
Laurilsulfato sódico	1	0,812	2,39
	2	1,112	2,90
	3	1,273	108,94
	4	1,966	3,31
	5	2,281	2753,00
Kollidón K-25	1	0,959	0,69
	2	1,281	5,13
	3	1,401	4,57
	4	1,964	2,64
	5	2,279	2972,00
Fosfato bicálcico anhidro	1	1,280	15,17
	2	1,398	1,84
	3	1,966	4,15
	4	2,279	3199,00
Almidón de maíz	1	1,280	10,53
	2	1,965	4,11
	3	2,279	3455,00
Avicel PH 101	1	0,802	2,61
	2	1,282	9,52
	3	1,402	3,03
	4	2,282	1968,00

Tabla LXXIX. Compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Parámetros de los picos obtenidos en cromatografía de líquidos (RP-HPLC) para las muestras mantenidas a 50 °C durante 154 días.

Excipiente	pico	t _R (min)	Area (mAus)
Estearato de magnesio	1	0,831	1,45
	2	1,483	55,35
	3	1,712	2,31
	4	2,302	1,94
	5	2,783	2616,00
Laurilsulfato sódico	1	1,275	2,64
	2	1,464	109,63
	3	2,298	2,02
	4	2,779	2661,00
Kollidón K-25	1	1,048	2,35
	2	1,467	58,47
	3	2,289	1,89
	4	2,770	2779,00
Avicel PH 101	1	1,481	37,57
	2	2,779	1585,00

Tabla LXXX. Compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Parámetros de los picos obtenidos en cromatografía de líquidos (RP-HPLC) para las muestras mantenidas a 40 °C y 75 % H.R. durante 56 días.

Excipiente	pico	t _R (min)	Area (mAus)
Estearato de magnesio	1	0,816	3,03
	2	1,296	2,68
	3	2,002	2,21
	4	2,338	2979,00
Laurilsulfato sódico	1	0,812	3,12
	2	2,001	2,66
	3	2,338	2832,00
Avicel PH 101	1	0,811	1,68
	2	1,290	3,77
	3	2,340	1871,00

Tabla LXXXI. Compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Parámetros de los picos obtenidos en cromatografía de líquidos (RP-HPLC) para las muestras mantenidas a 22 °C y 65 % H.R. durante 30 meses.

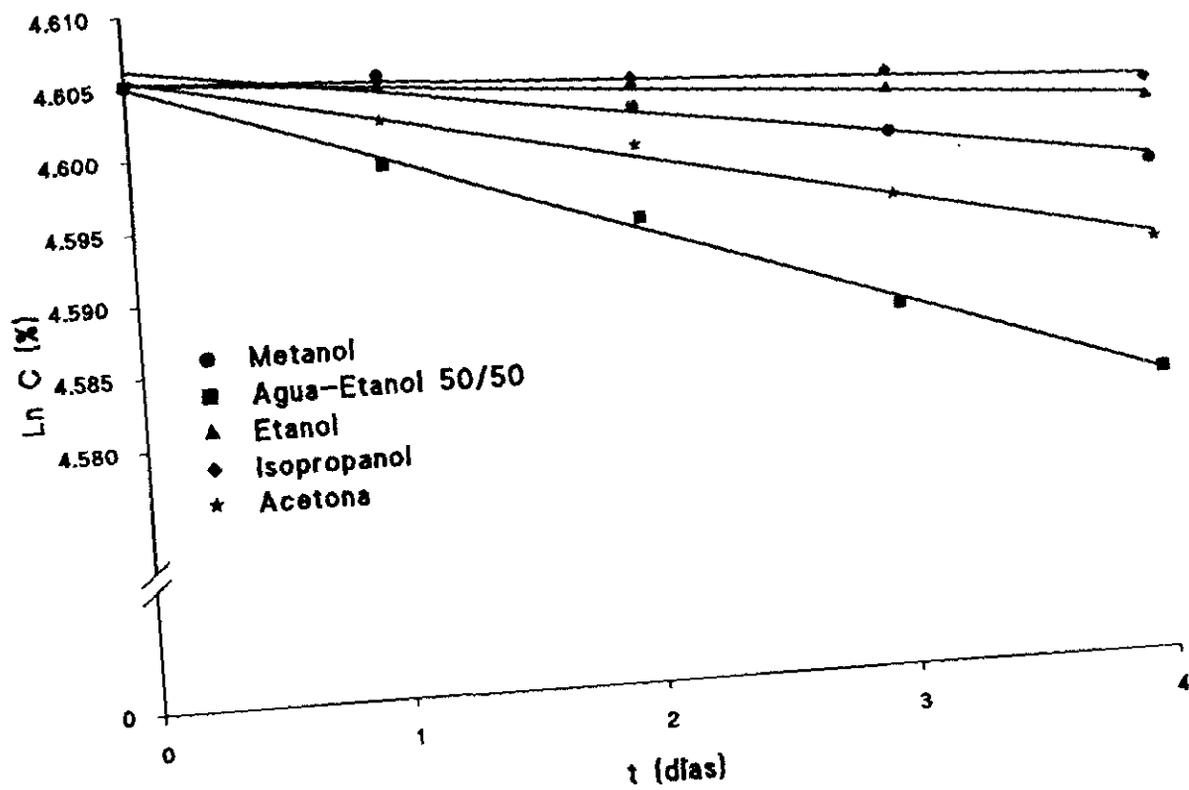


Figura 28. Degradación del Lobuprofeno según una cinética de primer orden a una temperatura de 45 °C, en disolución en distintos disolventes.

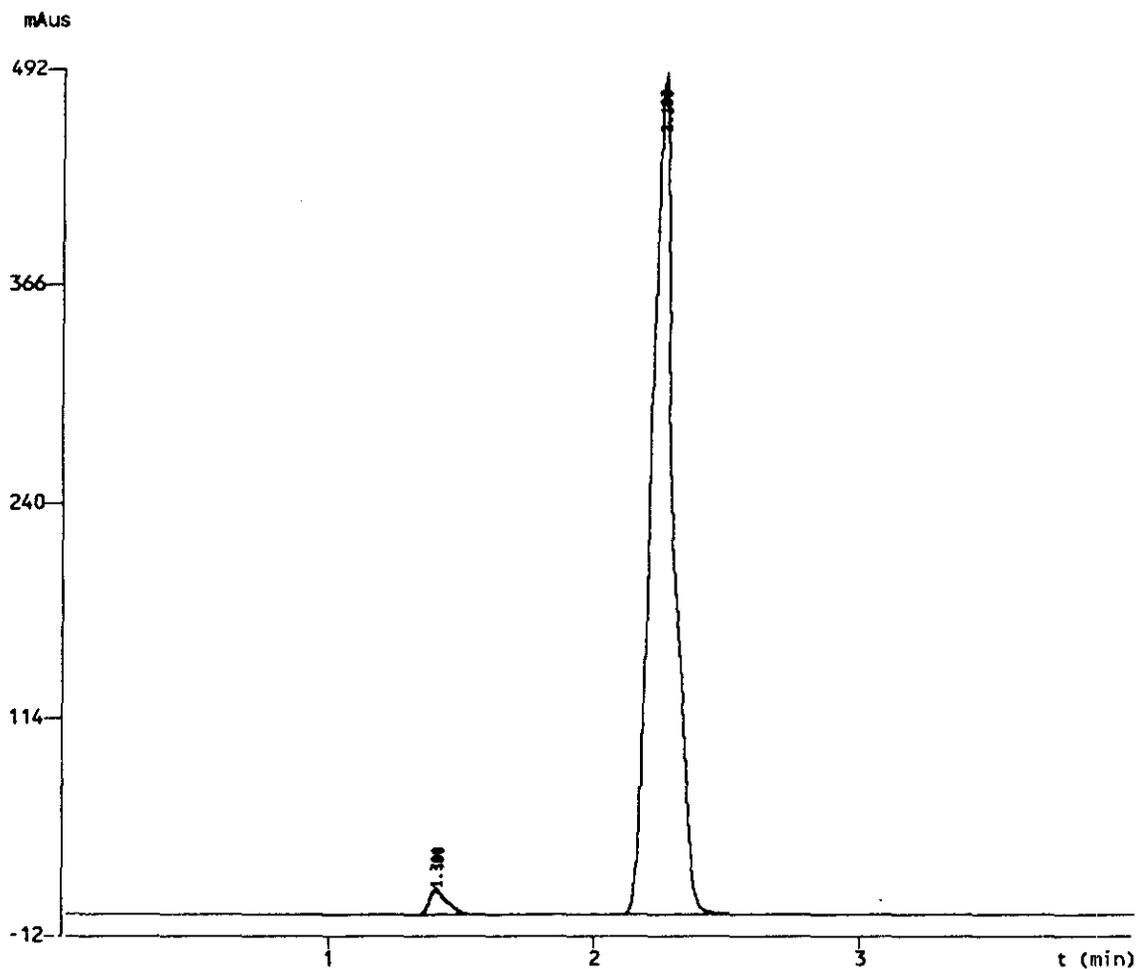


Figura 29. Cromatograma (RP-HPLC) correspondiente a una muestra de Lobuprofeno disuelto en agua/etanol (50/50), mantenido en estufa durante 4 días a 45 °C. Tiempo de retención (t_R) del pico correspondiente al Cloroalcohol: 1,380 min, área: 70 mAus; t_R del pico correspondiente al Lobuprofeno: 2,183 min, área: 2880 mAus.

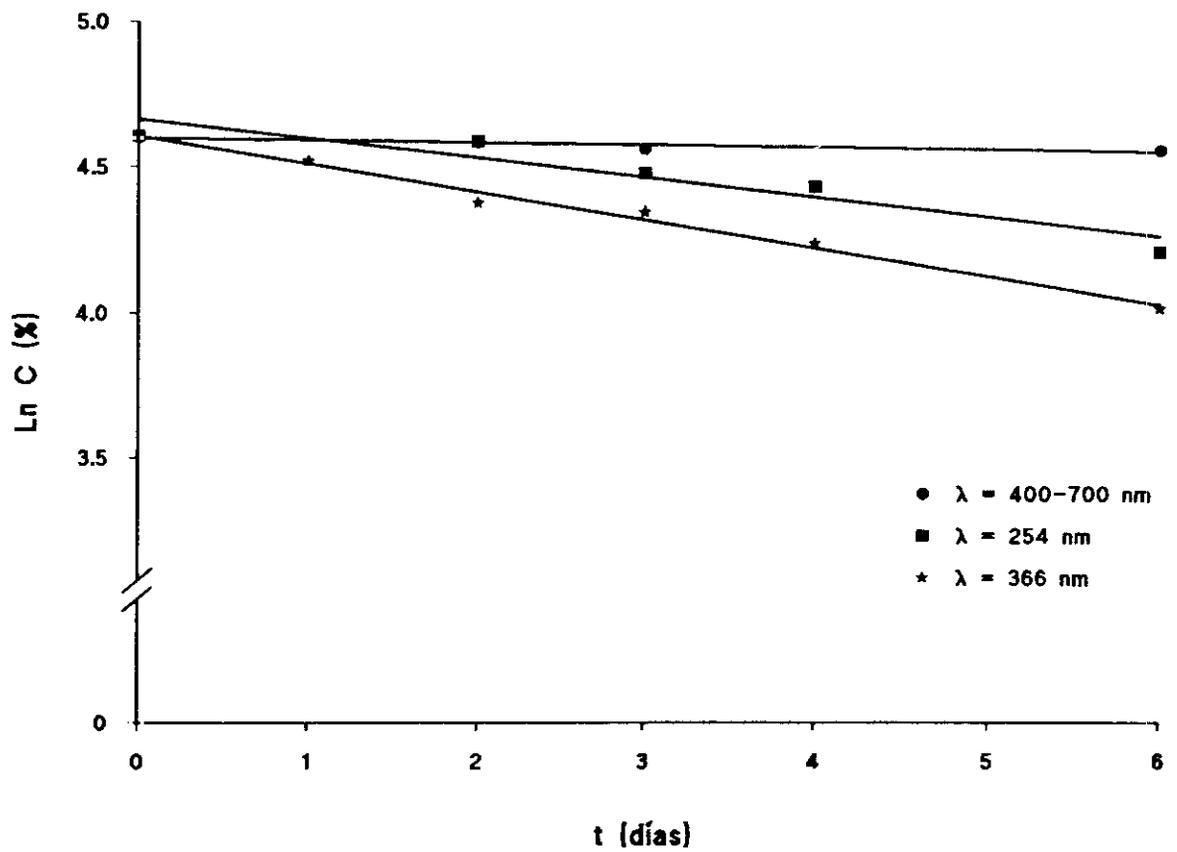


Figura 30. Fotodegradación del Lobuprofeno en disolución según una cinética de primer orden, en función de la longitud de onda de la radiación incidente.

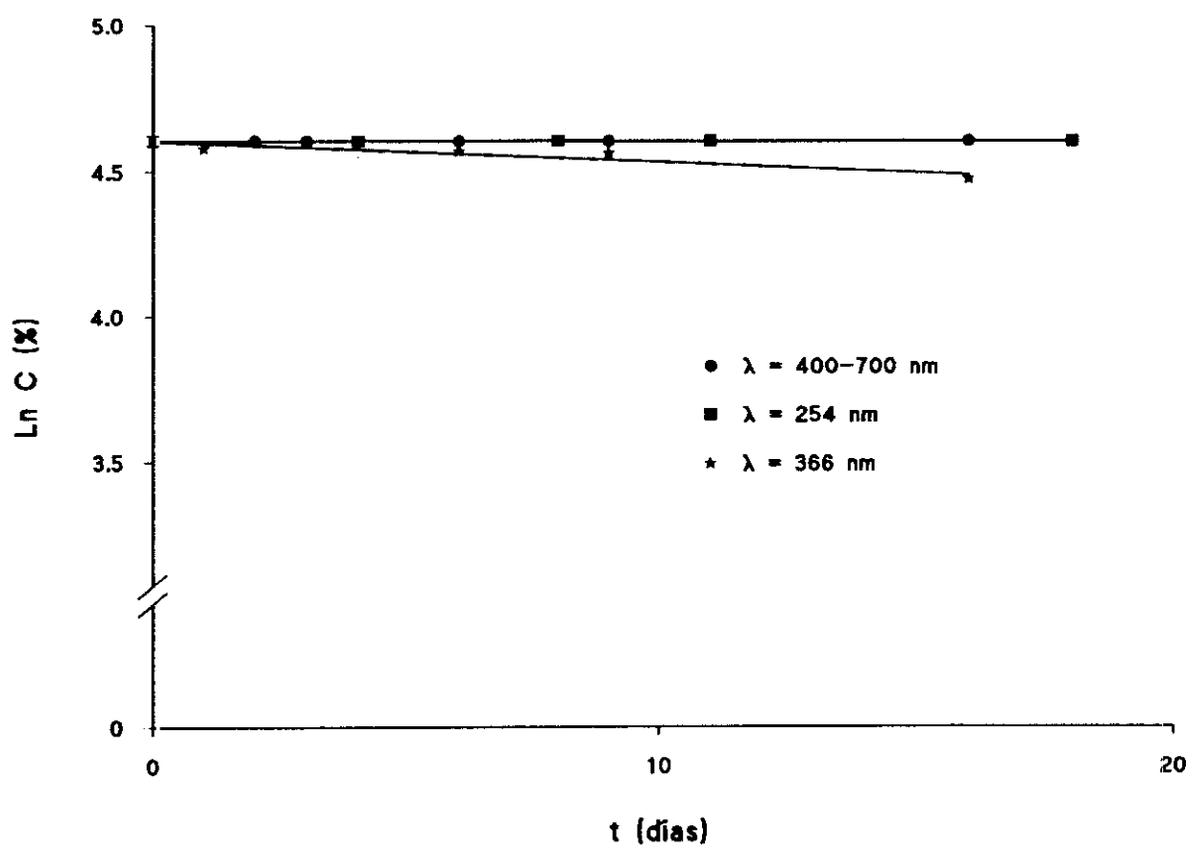


Figura 31. Fotodegradación del Lobuprofeno en estado sólido según una cinética de primer orden, en función de la longitud de onda de la radiación incidente.

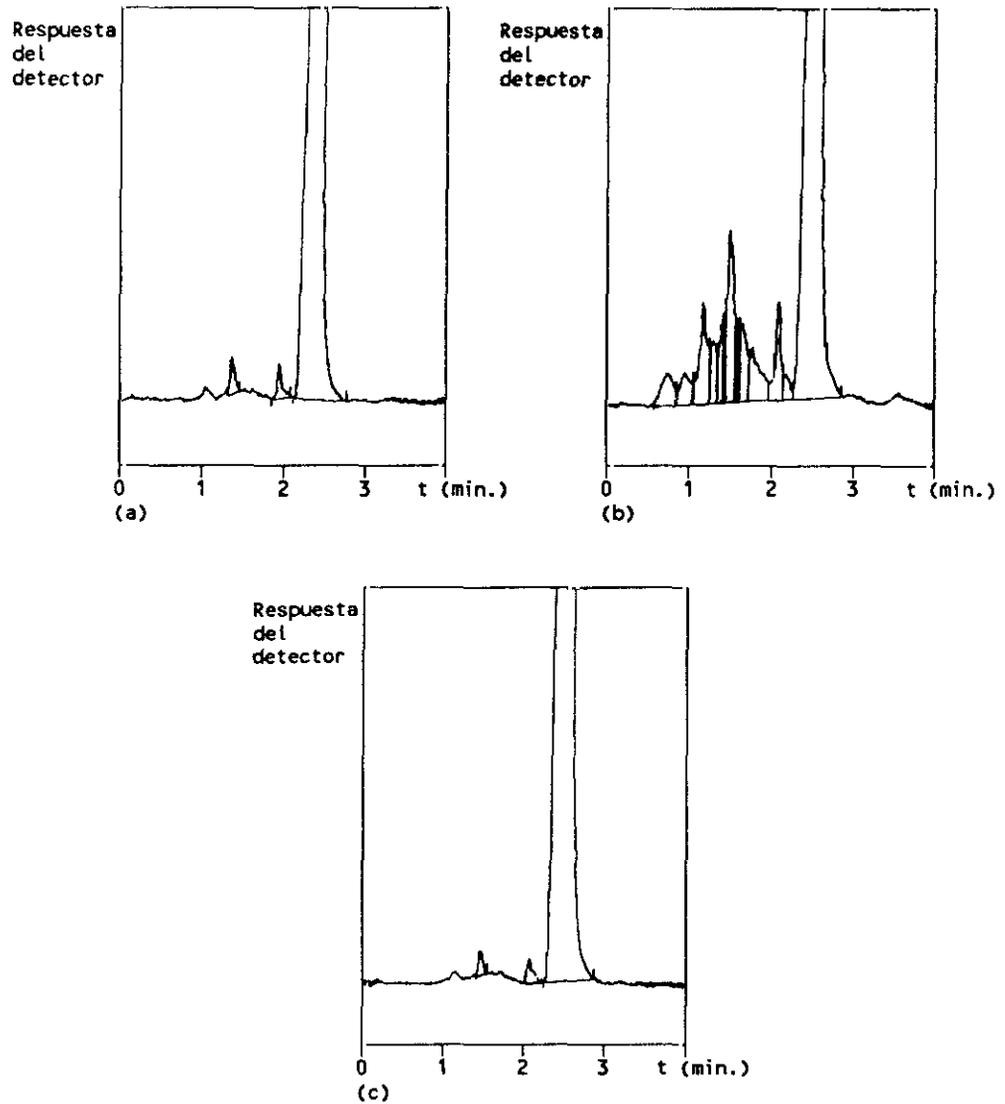


Figura 32. Cromatogramas (RP-HPLC) correspondientes al Lobuprofeno en estado sólido mantenido a) 18 días bajo 254 nm, b) 16 días bajo 366 nm, c) 16 días bajo 400-700 nm; t_R del pico correspondiente al Lobuprofeno: 2,382 min; área \approx 3000 mAus.

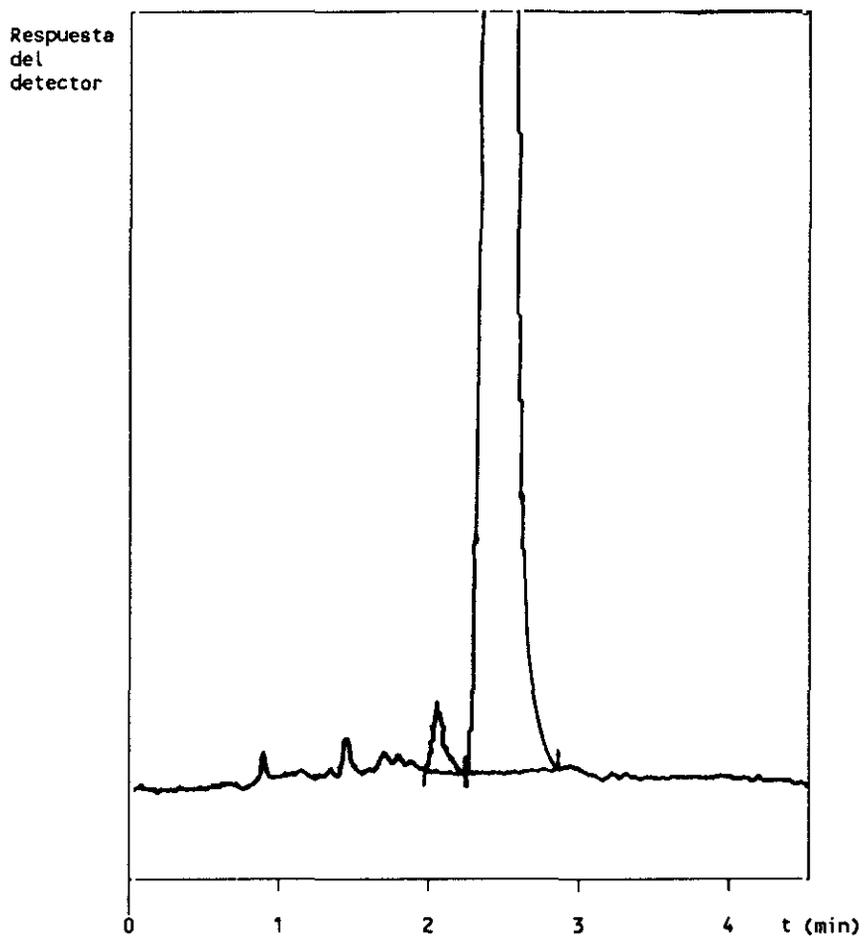


Figura 33. Cromatograma (RP-HPLC) correspondiente a una muestra de Lobuprofeno en estado sólido mantenido a 50 °C durante 450 días; t_R del pico correspondiente al Lobuprofeno: 2,284 min; área: 3064 mAus; t_R del pico secundario: 1,970 min; área: 4,01 mAus.

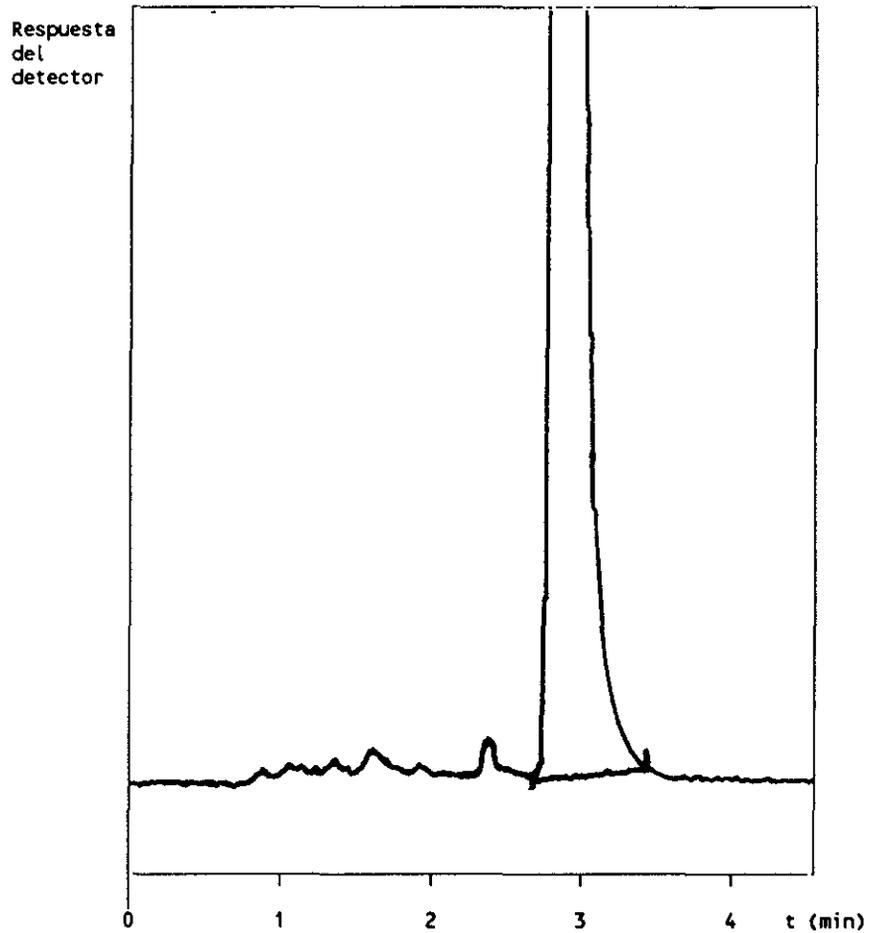


Figura 34. Cromatograma (RP-HPLC) correspondiente a una muestra de Lobuprofeno en estado sólido, mantenido a 40 °C y 75 % H.R. durante 56 días; t_r : 2,782 min; área: 2893 mAus.

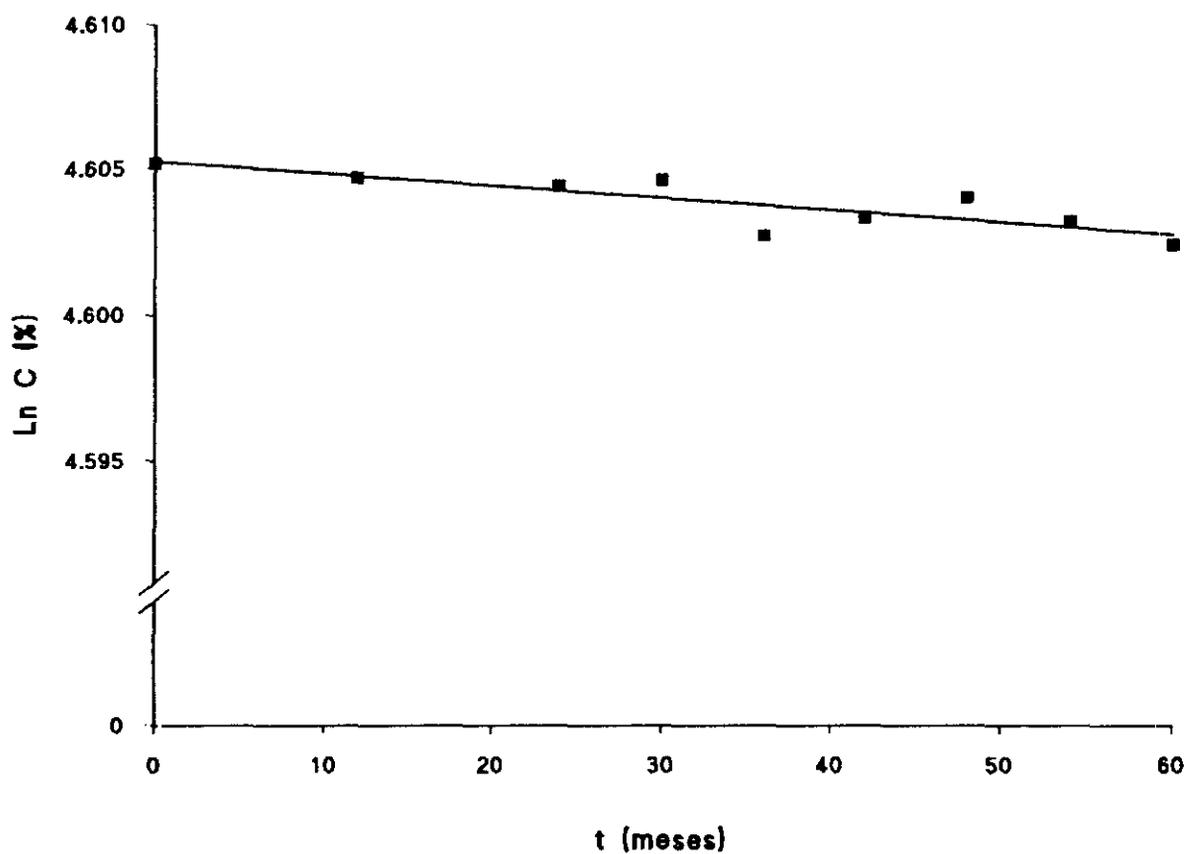


Figura 35. Estabilidad del Lobuprofeno al estado sólido en condiciones normales de almacenamiento (22 °C y 65 % H.R.), representación del modelo correspondiente a una cinética de primer orden.

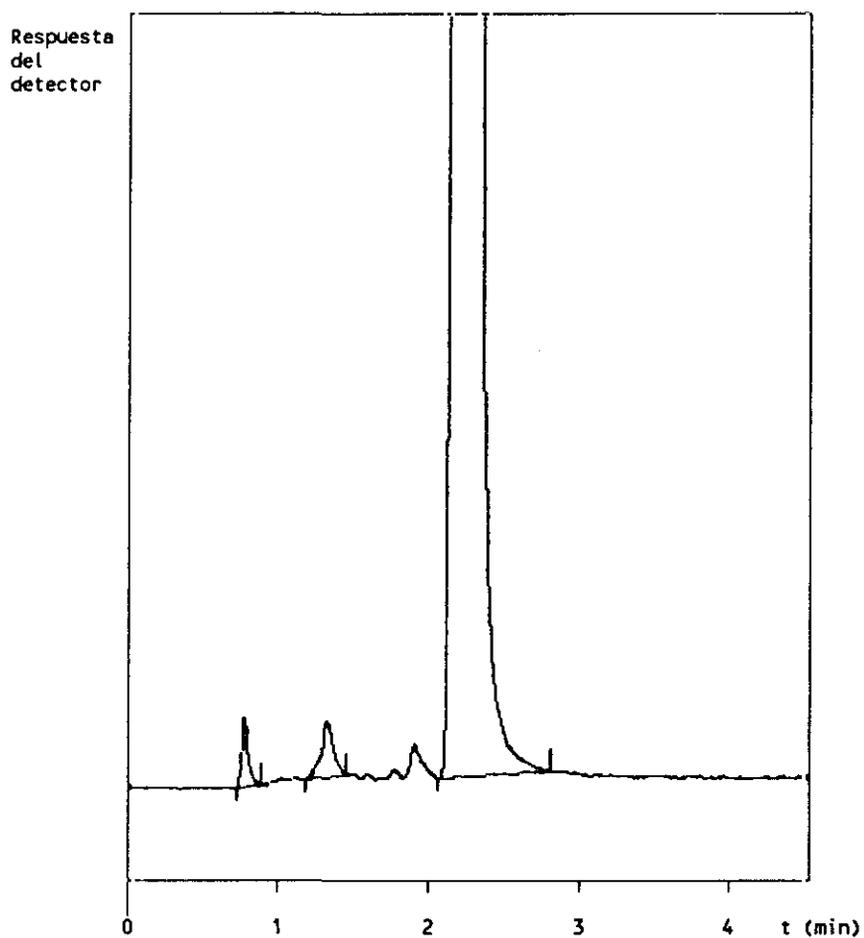


Figura 36. Cromatograma (RP-HPLC) correspondiente al Lobuprofeno en estado sólido almacenado durante 60 meses a 22 °C y 65 % H.R.; t_R del pico correspondiente al Lobuprofeno: 2,190 min; área: 2865 mAus; picos de degradación: $t_{R1} = 0,786$ min; área₁ = 2,403 mAus; $t_{R2} = 1,330$, área₂ = 3,761 mAus.

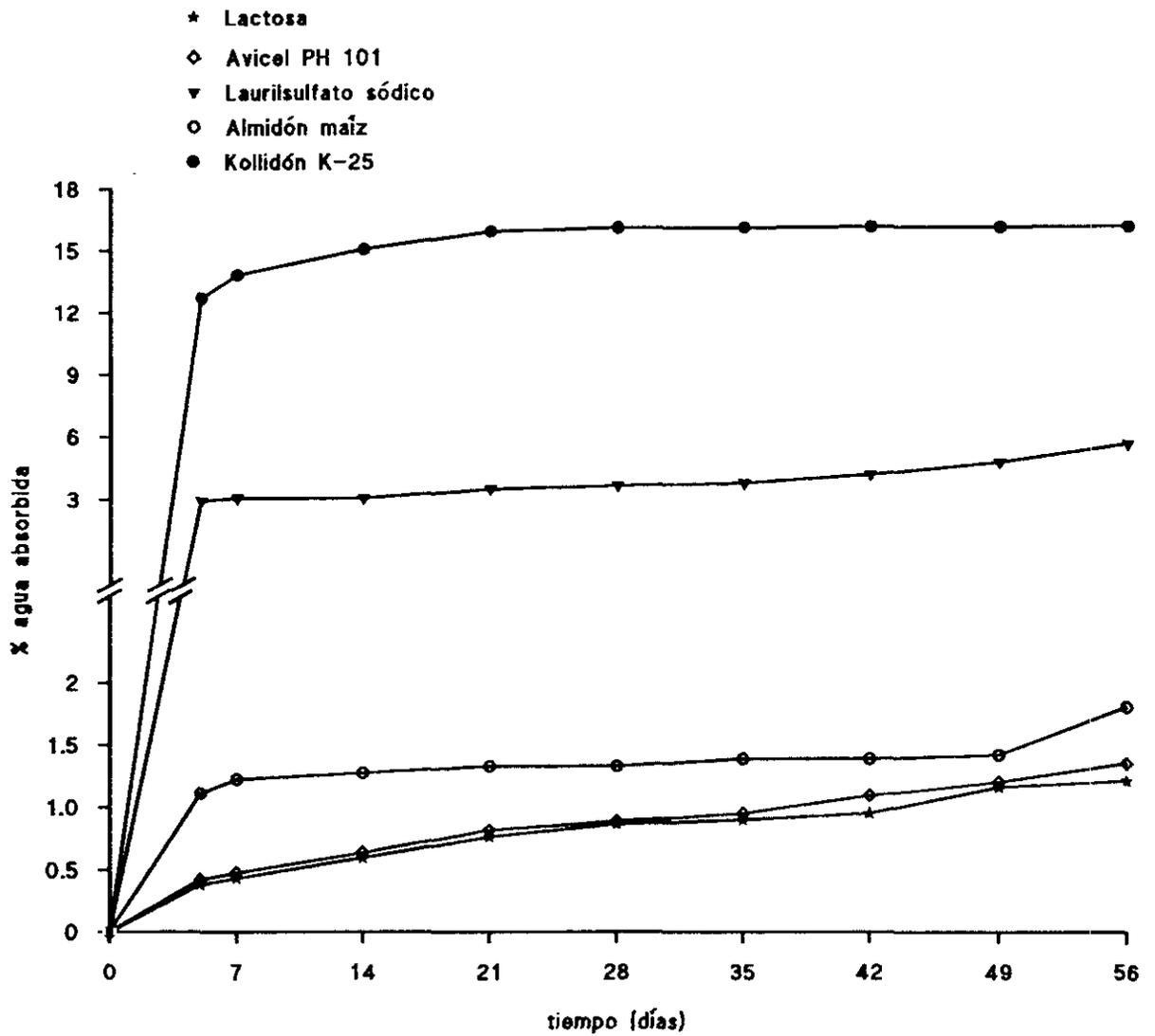


Figura 37. Estudio de la compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Agua absorbida por las muestras mantenidas a 40 °C y 75 % H.R.

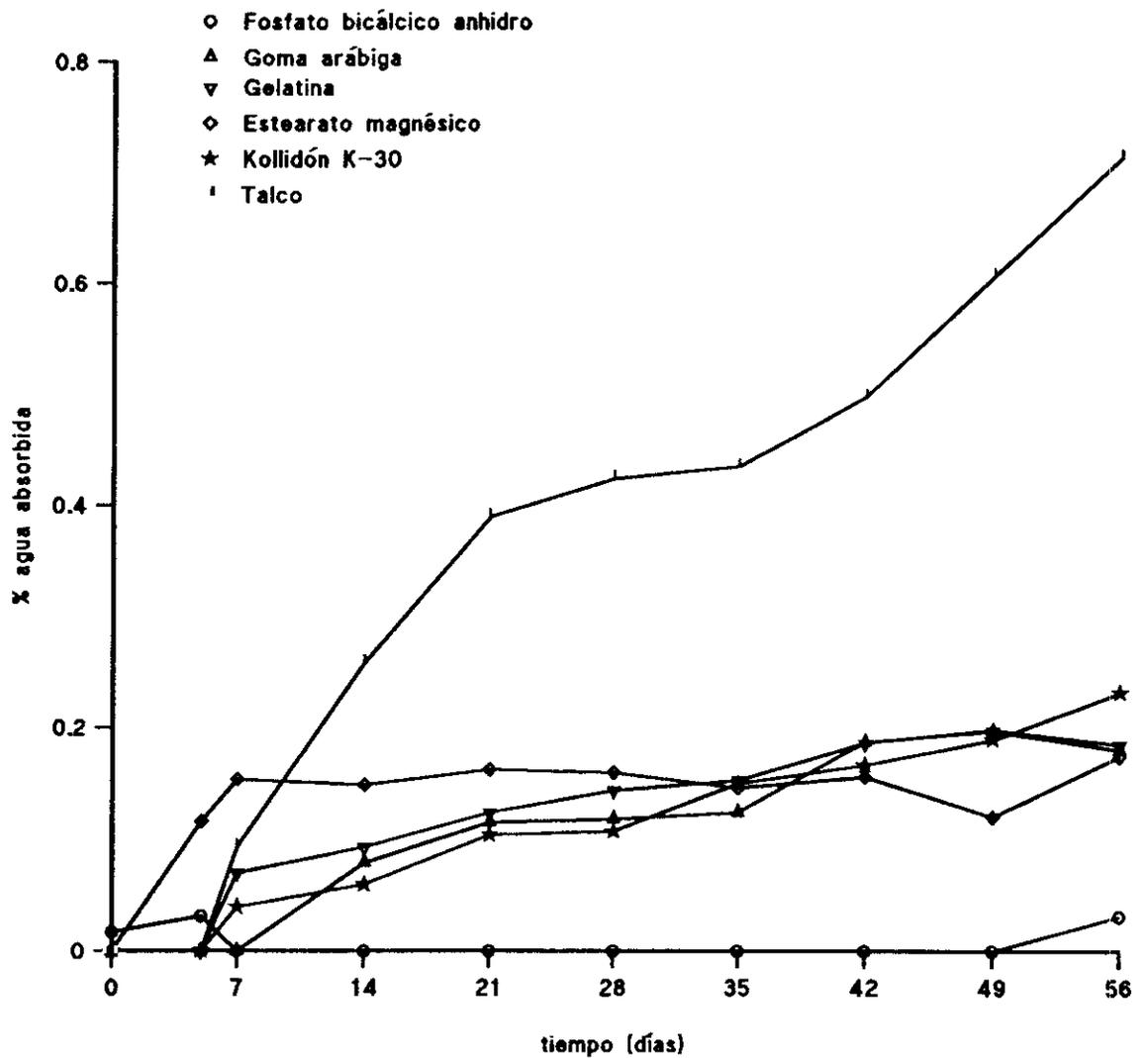


Figura 38. Estudio de la compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Agua absorbida por las muestras mantenidas a 40 °C y 75 % H.R.

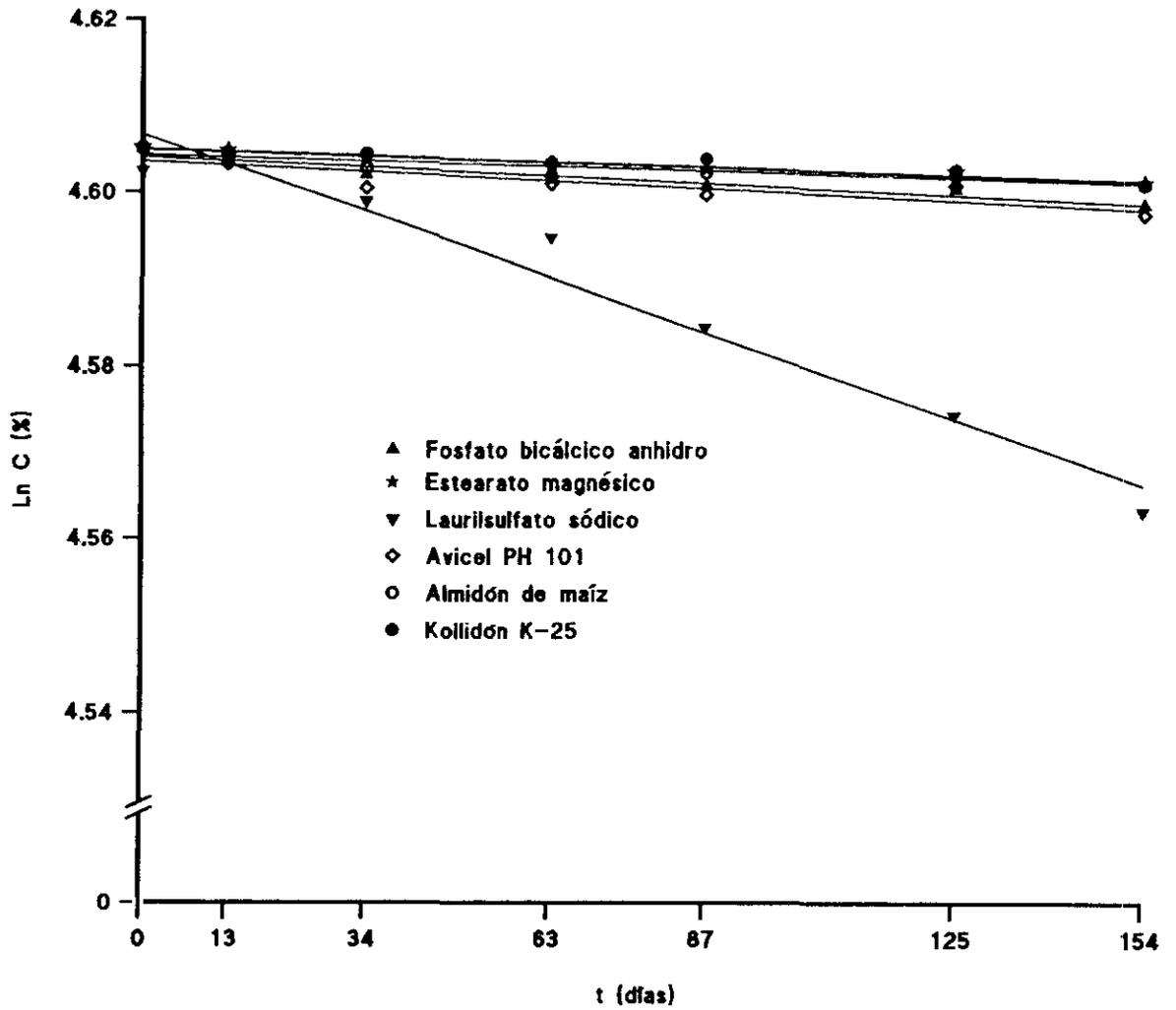


Figura 39. Compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Degradación según una cinética de primer orden en las muestras mantenidas a 50 °C.

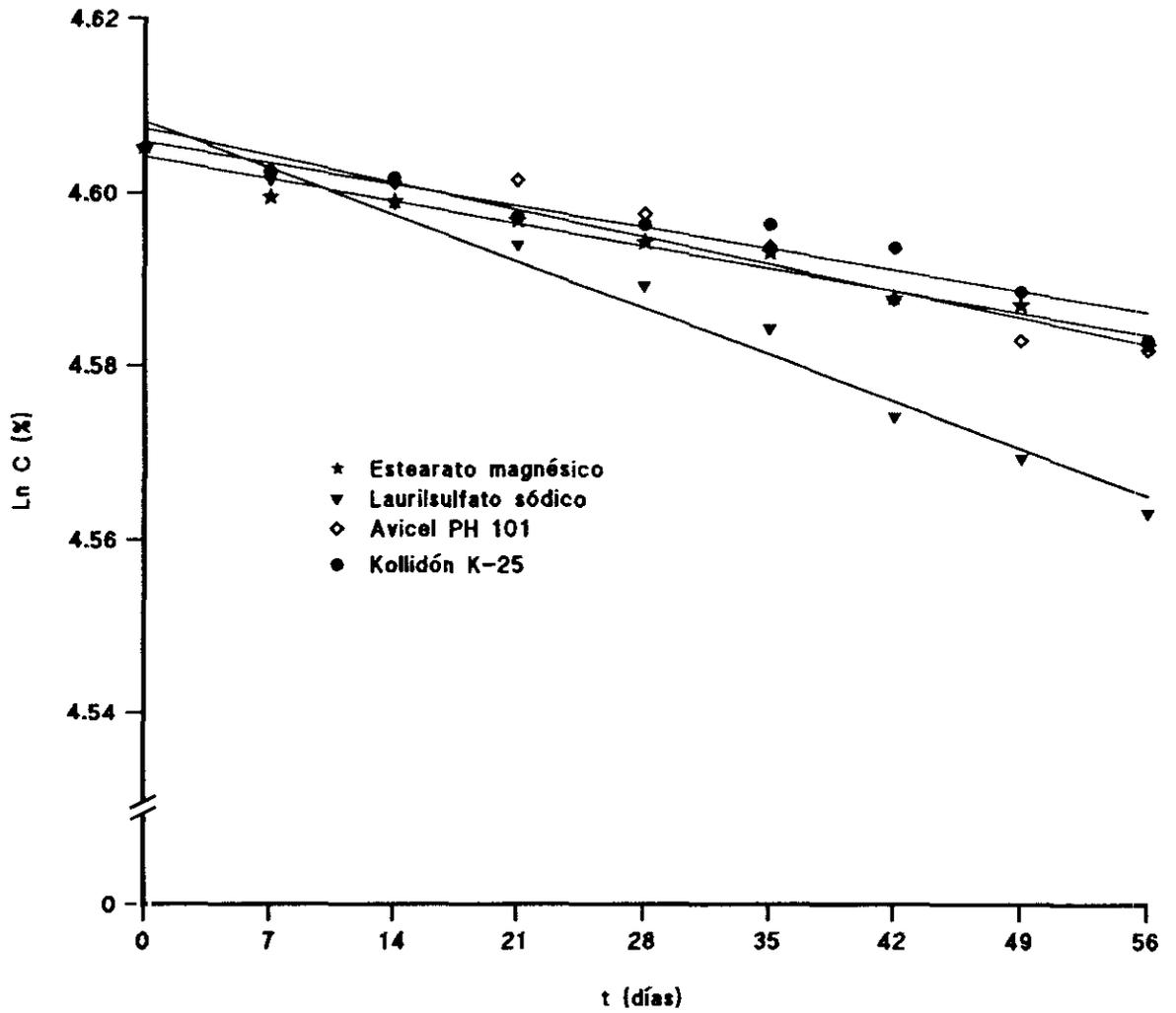


Figura 40. Compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Degradación según una cinética de primer orden en las muestras mantenidas a 40 °C y 75 % H.R.

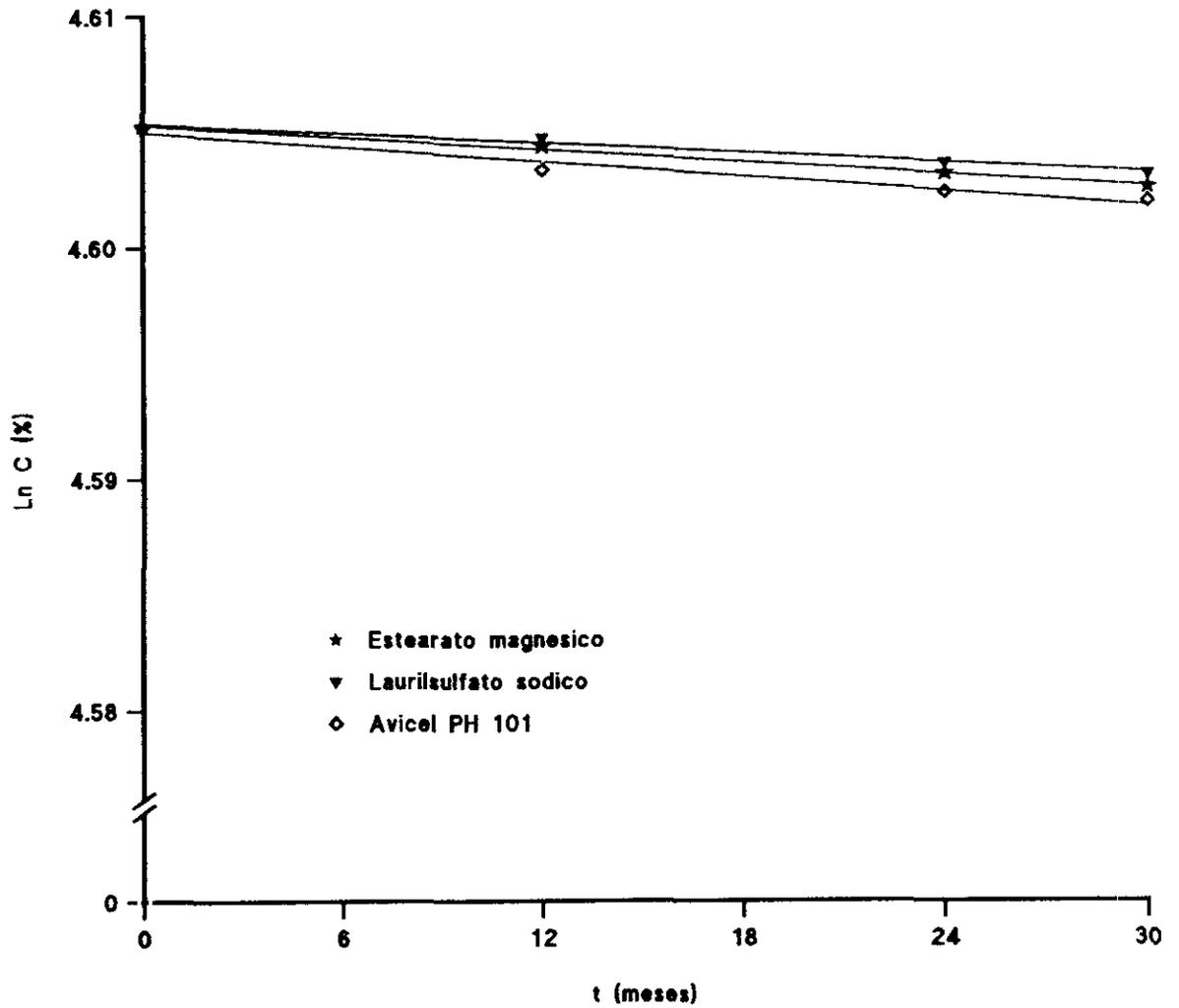


Figura 41. Compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Degradación según una cinética de primer orden en las muestras mantenidas a 22 °C y 65 % H.R.

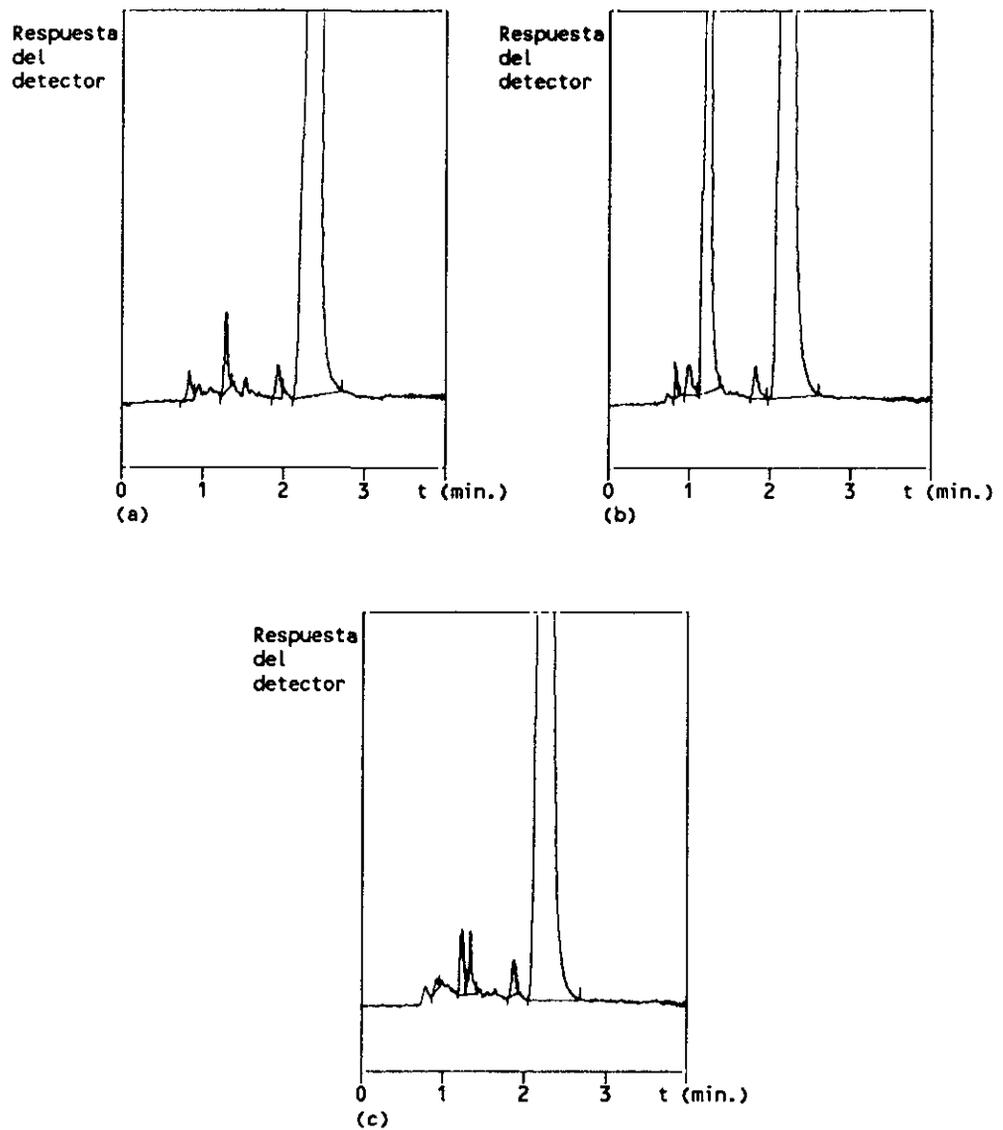


Figura 42. Cromatogramas (RP-HPLC) correspondientes al estudio de compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Muestras mantenidas durante 154 días a 50 °C. Mezclas de Lobuprofeno con a) estearato de magnesio, b) laurilsulfato sódico y c) Kollidón K-25.

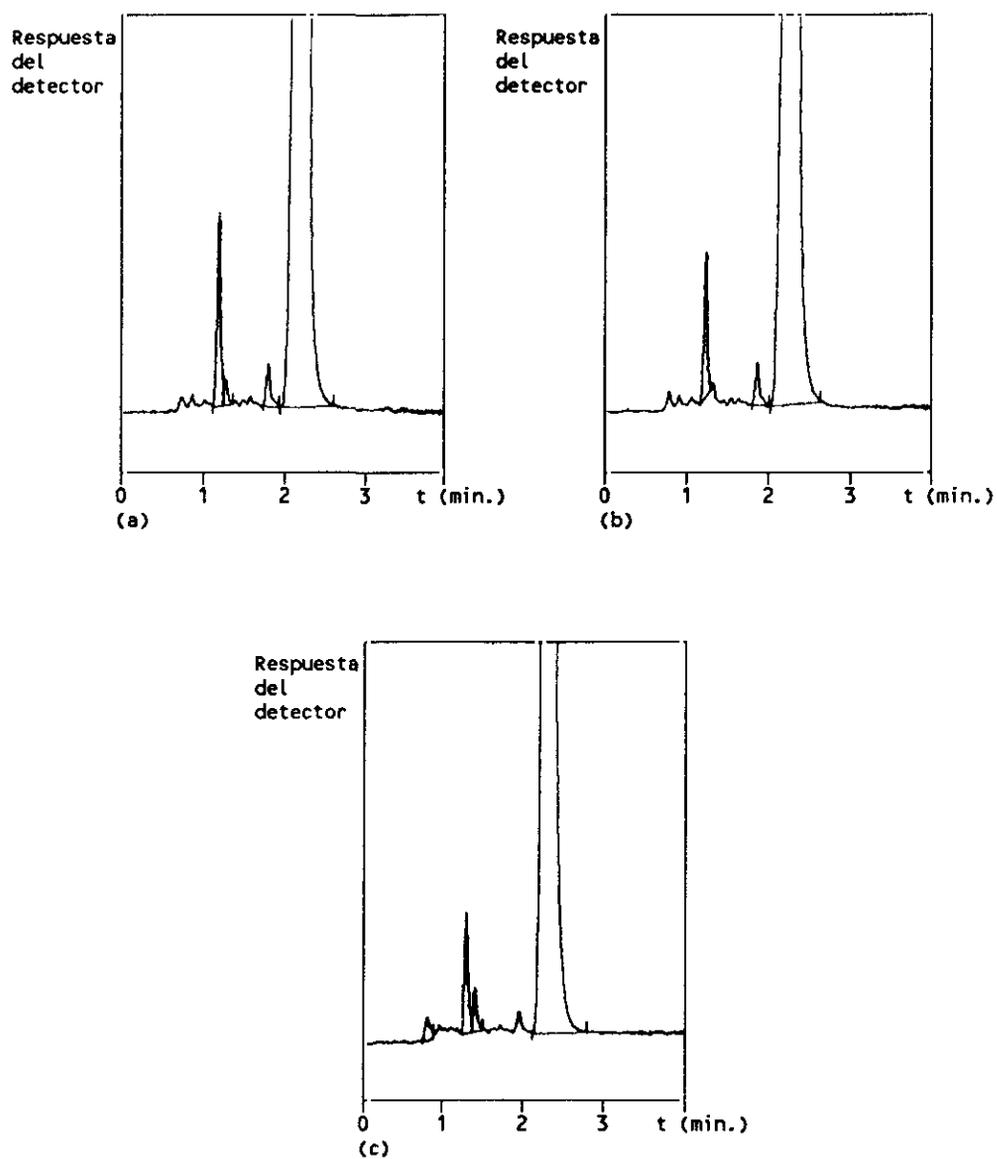


Figura 43. Cromatogramas (RP-HPLC) correspondientes al estudio de compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Muestras mantenidas durante 154 días a 50 °C. Mezclas de Lobuprofeno con a) fosfato bicálcico anhidro, b) almidón de maíz y c) Avicel PH 101.

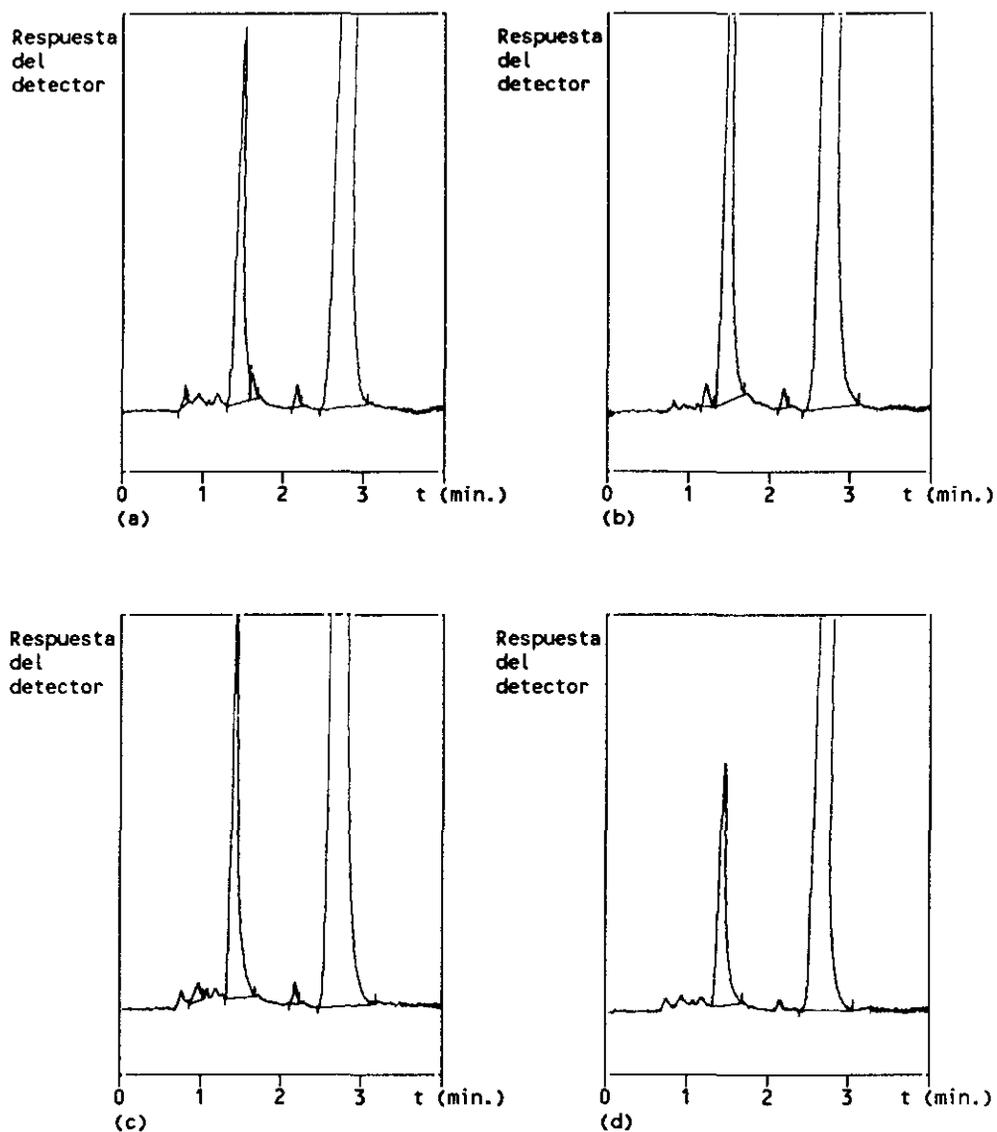


Figura 44. Cromatogramas (RP-HPLC) correspondientes al estudio de compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Muestras mantenidas durante 56 días a 40 °C y 75 % H.R. Mezclas de Lobuprofeno con a) estearato de magnesio, b) laurilsulfato sódico, c) Kollidón K-25 y d) Avicel PH 101.

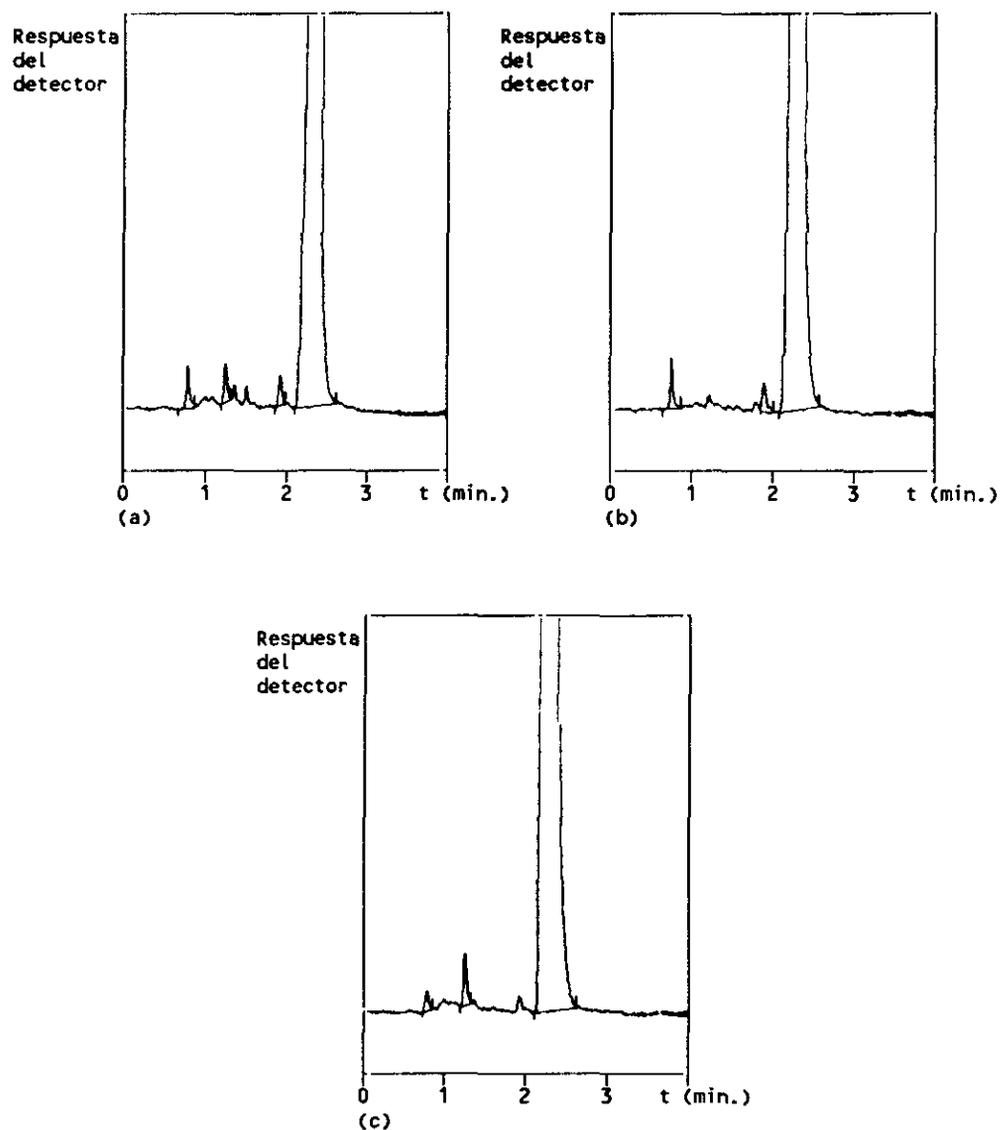


Figura 45. Cromatogramas (RP-HPLC) correspondientes al estudio de compatibilidad del Lobuprofeno con excipientes. Muestras mantenidas a 22 °C y 65 % H.R. durante 30 meses. Mezclas de Lobuprofeno con a) estearato de magnesio, b) laurilsulfato sódico y c) Avicel PH 101.

IV . - CONCLUSIONES

El Lobuprofeno, clorhidrato de 2-(4-isobutilfenil) propionato de 2-[N-(3-clorofenil)piperazinil]etilo, es un producto nacido a partir de la selección de una serie de sustancias dotadas de propiedades analgésicas, periféricas y centrales, con un nivel toxicológico relativo que le dota de una buena tolerancia.

Paralelamente a la consecución de las pruebas necesarias para completar el conocimiento farmacotoxicológico y farmacocinético, se realizan los estudios para su caracterización y cuantificación, así como para llevar a cabo su desarrollo de preformulación, el cual se elabora en base a las formas farmacéuticas previstas que, después de considerar aspectos biofarmacéuticos y de mercado, resultan ser las de comprimidos y de soluciones inyectables.

De los estudios realizados se obtienen las siguientes conclusiones:

- 1.- Para la caracterización de la molécula pueden emplearse las técnicas de cromatografía de capa fina (CCF) y cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC), por poseer ambas la necesaria selectividad.

- 2.- En cuanto a la cuantificación, el método de espectrofotometría UV es poco selectivo, pudiendo emplearse sólo en aquellos casos en que el Lobuprofeno se encuentre aislado de otras sustancias con capacidad de absorción. Cuando estas sustancias estén presentes, tal y como puede ocurrir en los estudios de estabilidad, el método de elección es el de RP-HPLC.

La absortividad molar del Lobuprofeno y del 2-[N-(3-clorofenil)piperazinil]etanol o Cloroalcanol, producto de degradación mayoritario debido a un proceso hidrolítico, es muy similar, lo que permite una cuantificación del proceso de degradación, aunque las variaciones de concentración sean muy pequeñas.

- 3.- La elevada lipofilia del Lobuprofeno, tanto en forma de base como de clorhidrato (log P entre 6-7 y 3-3,5 respectivamente), justifica su escasa hidrosolubilidad, inclusive con valores muy bajos de pH, en los que existes una mayor posibilidad de ionización, dado su carácter débilmente básico.
- 4.- Con la presencia de agentes solubilizantes en el medio acuoso no se consigue aumentar la solubilidad por encima de 0,025 % p/v, lo que supone un grave inconveniente para la preparación de formas

líquidas en solución, tanto para uso oral como parenteral.

Para la formulación de soluciones inyectables, sería posible emplear como cosolventes el etanol o el glicerinformal, no obstante, existe una limitación en el uso de estos disolventes para la vía intravenosa, por lo que, de las dos formas farmacéuticas inicialmente propuestas para el Lobuprofeno, se considera que es la de comprimidos la que presenta mejores perspectivas de viabilidad, desde el punto de vista farmacotécnico.

- 5.- La velocidad de disolución del Lobuprofeno en medio acuoso es muy baja, aun en las situaciones más favorables: condiciones sink, pH de máxima solubilidad y tamaño de partícula inferior a 50 μm .

No existen diferencias significativas para los valores de constante aparente de velocidad de disolución, en las muestras de Lobuprofeno recristalizado en distintos disolventes.

Ante las características de hidrosolubilidad expuestas, sorprenden los buenos resultados obtenidos, en los estudios previos farmacocinéticos, en cuanto a la absorción oral del Lobuprofeno.

- 6.- El Lobuprofeno es un producto que cristaliza en forma de placas y agujas, a lo que se deben las malas propiedades de flujo que presenta el material. Esta baja fluidez se corresponde con los elevados valores de porosidad e índice de Carr de compresibilidad. Por todo ello es previsible que surjan serias dificultades en la preparación de comprimidos con fórmulas de compresión directa. Su pequeño tamaño de partícula (90 % del producto inferior a 243 μm), tampoco favorece, a pesar de presentar una distribución unimodal, este proceso tecnológico.
- 7.- El Lobuprofeno se comporta como un sólido muy poco higroscópico, por lo que, aun existiendo un grupo éster en su molécula, no es probable que la humedad sea causa de su alteración física o química durante su almacenamiento y manipulación.
- 8.- La luz es el principal agente externo que ejerce un efecto catalítico sobre la degradación del Lobuprofeno, tanto en disolución como al estado sólido, fundamentalmente con las radiaciones del UV-A, por ello es necesario tomar precauciones, tanto en su manipulación como en su almacenamiento, para evitar la incidencia de la luz solar directa o difusa.

- 9.- Los resultados obtenidos en los estudios de estabilidad en condiciones normales de almacenamiento, con la aparición al cabo de cinco años de productos de degradación en un porcentaje que no supera el 0,25 %, confirma la excelente estabilidad que presenta la molécula y nos permite establecer, para la materia prima al estado sólido, un período de validez de al menos cinco años.
- 10.- En las condiciones experimentales del presente trabajo no se ha detectado incompatibilidad entre el Lobuprofeno y los excipientes y líquidos de humectación más frecuentemente utilizados en la preparación de comprimidos. La mejora de las propiedades de flujo del Lobuprofeno será, pues, el criterio fundamental en el que se base la selección de los componentes de la formulación.

V . - B I B L I O G R A F I A

1. KOROLKOVAS, A.; (1988); "Development of Drugs"; Essentials of Medicinal Chemistry; 2ª Edición; John Wiley & Sons; New York; p. 53-139.
2. WILLIAMS, M.; MALICK, J.B.; (1987); "Drug Discovery and Development. Reflections and Projections"; Drug Discovery Development; (M. Williams, J.B. Malick, eds.); The Humana Press Inc.; Clifton; p. 3-29.
3. MANOURY, P.M.; DUMAS, A.P.; NAJER, H.; BRANCENI, D.; PROTEAU, M.; LEFEVRE-BORG, F.M.; (1979); "Synthesis and Analgesic Activities of Some (4-Substituted phenyl-1-piperazinyl)alkyl 2-Aminobenzoates and 2-Aminonicotines"; J. Med. Chem.; 22, 5, p. 554-559.
4. ROVEI, V.; BROQUAIRE, M.; TEDESCHI, G.; THEBAULT, J.J.; SAUVANET, J.P.; LARRIVAUD, J.; (1980); "Pharmacocinétique de l'Antraféne Après Prise Unique Chez l'Adulte Jeune"; Thérapie; 35, 4, p. 551-552.
5. DRING, L.G.; DURAND, A.; GOMENI, R.; MASCHAMBERLAIN, C.; (1978); "A Kinetic Study of the Fate of SL 73033 (Antraféne) in the Rat"; Brit. J. Pharmacol.; 63, 2, p. 368P.
6. ROVEI, V.; SANJUAN, M.; MITCHARD, M.; (1977); "Preliminary Studies on the Metabolism of the New Analgesic Antraféne in Man, Rat, and Dog Using GC-MS"; Ann. Chim. (Italy); 67, p. 733-743.
7. SAUVANET, J.P.; ROVEI, V.; GUINEBAULT, P.; TROCHERIE, S.; MEMIN, Y.; GOMENI, R.; BRAITHWAITE, R.A.; VENET, R.; (1980); "Pharmacocinétique de l'Antraféne Après Administration Unique et Après Prise Répétée Chez le Sujet Âgé "; Thérapie; 35, 4, p. 552-554.
8. PETERFALVI, M.; BRANCENI, D.; AZADIAN-BOULANGER, G.; CHIFFLOT, L.; JEQUIER, R.; (1966); "Etude Pharmacologique d'un Nouveau Composé Analgésique Antiinflammatoire, La Glaphénine"; Med. Pharmacol. Exp.; 15, p. 254-266.
9. TORRES SUAREZ, A.I.; CAMACHO, M.A.; (1991); "Planteamiento de un Programa de Preformulación y Formulación de Comprimidos"; Industria Farmacéutica; Marzo-Abril, p. 85-92.

10. WADKE, D.A.; JACOBSON, H.; (1980); "Preformulation Testing"; Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets; (H.A. Lieberman and L. Lachman, eds.); vol. 1; Marcel Dekker, Inc.; New York; p. 1-59.
11. GREENE, D.S.; (1979); "Preformulation"; Modern Pharmaceutics; (G.S. Banker and C.T. Rhodes, eds.); Marcel Dekker, Inc.; New York; p. 211-225.
12. MOTOLA, S.; AGHARKAR, S.; (1984); "Preformulation Research of Parenteral Medications"; Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications; (K.E. Avis, L. Lachman and H.A. Lieberman, eds.); vol. 1; Marcel Dekker, Inc.; New York; p. 89-138.
13. FIESE, E.F.; HAGEN, T.A.; (1986); "Preformulation"; The Theory and Practice of Industrial Pharmacy; (L. Lachman, H.A. Lieberman, J.L. Kanig, eds.); 3ª edición; Leo & Febiger; Filadelfia; p. 171-195.
14. PLÁ DELFINA, J.M.; OBACH VIDAL, R.; (1982); "Influencia de los Factores Físicoquímicos y Farmacotécnicos en la Biodisponibilidad de los Medicamentos"; Revista A.E.F.H.; 6, p. 247-275.
15. OBACH VIDAL, R.; PLÁ DELFINA, J.M.; (1983); "Influencia de los Factores Físicoquímicos y Farmacotécnicos en la Biodisponibilidad de los Medicamentos (II)"; Revista A.E.F.H.; VII, p. 221-246.
16. WELLS, J.I.; (1988); "Melting Point"; Pharmaceutical Preformulation. The Physicochemical Properties of Drug Substances; 1ª Edic.; Ellis Horwood Ltd.; Chichester; p. 86-102.
17. DAVIS, S.S.; HADGRAFT, J.; PALIN, K.J.; (1985); "Medical and Pharmaceutical Applications of Emulsions"; Encyclopedia of Emulsion Technology; (P. Becher, ed.); vol. 2; Marcel Dekker, Inc.; New York; p. 193-194.
18. DEASY, P.B.; (1984); "Release of Drug from Microcapsules and Microparticles"; Microencapsulation and Related Drug Processes; Marcel Dekker, Inc.; New York; p. 299-300.

19. FRANQUESA, R.; ALVAREZ, J.L.; (1985); "Causas de Inestabilidad". Estabilidad de Medicamentos; 1ª Edición; AEFI; Imprenta Planás; Sant Hipòlit de Voltregà; p. 47-53.
20. KORNBLUM, S.S.; SCIARRONE, B.J.; (1964); "Decarboxylation of p-Aminosalicylic Acid in the Solid State"; J. Pharm. Sci.; 53, 8, p. 935-941.
21. TINGSTAD, J.; DUDZINSKI, J.; (1973); "Preformulation Studies II: Stability of Drug Substances in Solid Pharmaceutical Systems"; J. Pharm. Sci.; 62, 11, p. 1856-1860.
22. HAJDU, J.; ADAMS, G.; LEE H-K.; (1988); "Preformulation Study of Pelrinone Hydrochloride"; J. Pharm. Sci.; 77, 11, p. 921-925.
23. FLORENCE, A.T.; ATTWOOD, D.; (1988); "Solubility and Partitioning of Drugs"; Physicochemical Principles of Pharmacy; 2ª Edición; Mac Millan Press; Hong Kong; p. 131-137.
24. PINAL, R.; YALKOWSTY, S.H.; (1988); "Solubility and Partitioning IX: Solubility of Hydantoins in Water"; J. Pharm. Sci.; 77, 6, p. 518-522.
25. TRANE, J.; (1989); "Spray-embedding of Low-Solubility Drugs"; Acta Pharm. Technol.; 35, p. 155-159.
26. SERAJUDDIN, A.T.M.; SHEEN, P.C.; AUGUSTINE, M.A.; (1990); "Improved Dissolution of a Poorly Water-Soluble Drug from Solid Dispersions in Polyethylene Glycol: Polysorbate 80 Mixtures"; J. Pharm. Sci.; 79, 5, p. 463-464.
27. PITTALUGA, J.A.; RAMON, P.; DUPOUY, M.A.; MICHAUD, P.; RODRIGUEZ, F.; (1988); "Formulation et optimisation de dispersions solides"; S.T.P. Pharma; 4, 8, p. 663-668.
28. MUKERJEE, P.; (1971); "Solubilization of Benzoic Acid Derivatives by Nonionic Surfactants: Location of Solubilizates in Hydrocarbon Core of Micelles and Polyoxyethylene Mantle"; J. Pharm. Sci.; 60, 10, p. 1528-1530.

29. THAKKAR, A.L.; HALL, N.A.; (1968); "Micellar Solubilization of Testosterone II. In Aqueous Solutions of Some Ionic Surfactants"; J. Pharm. Sci.; 57, 8, p. 1394-1398.
30. TASSET, C.; PRÉAT, V.; ROLAND, M.; (1991); "The Influence of Myrj 59 on the Solubility, Toxicity and Activity of Amphotericin B"; J. Pharm. Pharmacol; 43, p. 297-302.
31. NAJIB, N.M.; SULEIMAN, M.; MALAKH, A.; (1986); "Characteristics of the in Vitro Release of Ibuprofen from Polyvinylpyrrolidone Solid Dispersions"; Int. J. Pharm.; 32, p. 229-236.
32. WELLS, J.I.; (1988); "Powder Flow Properties"; Pharmaceutical Preformulation. The Physicochemical Properties of Drugs Substances; 1ª Edic.; Ellis Horwood Ltd.; Chichester; p. 209-214.
33. ALAMO, C.; CARRETERO, J.; MARTIN, J.L.; (1988); "Lobuprofen Hydrochloride"; Drugs of the Future; 13, 4, p. 314-316.
34. CIRUJANO, S.; ALGUACIL, L.F.; MARTIN, J.L.; ALAMO, C.; (1989); "Perfil Analgésico del Lobuprofeno. Participación de Mecanismos Serotoninérgicos"; Rev. Farmacol. Clin. Experim.; 6, 3, p. 216.
35. CIRUJANO, S.; ALAMO, C.; MARTIN, J.L.; MARTIN, F.; (1986); "Actividad Ulcerogénica de Dos Nuevos Analgésicos: Lobuprofeno y Frabuprofeno. Influencia sobre la Secreción Ácida y Moco Gástrico"; Rev. Farmacol. Clin. Experim.; 3, 3, p. 173.
36. RAO, C.N.; (1970); "Conceptos Básicos y Métodos Experimentales"; Espectroscopía ultravioleta y visible; 1ª Edición Española; Ed. Alhambra, S.A.; Madrid, p. 1-5.
37. TOUCHSTONE, J.C.; DOBBINS, M.F.; (1978); "Basics of Thin Layer Chromatography"; Practice of thin layer chromatography; John Wiley & Sons; New York; p. 1-15.
38. PARRIS, N.A.; (1984); "Nature of the Mobile Phase"; Instrumental Liquid Chromatography; Journal of

- Chromatography Library; vol. 27; 2ª Ed.; Ed. Elsevier; Amsterdam; p. 135-174.
39. PARRIS, N.A.; (1978); "The Development of British Pharmacopeia Monographs for Idoxuridine and Idoxuridine Eye Drops Using High-Pressure Liquid Chromatography for Assay and for Controlling Related Impurities"; J. Chromatogr.; **157**, p. 171-184.
 40. PARRIS, N.A.; (1984); "Basic Principles and Terminology"; Instrumental Liquid Chromatography; Journal of chromatography Library; vol. 27; 2ª Ed.; Ed. Elsevier; Amsterdam; p. 7-21.
 41. AYRES, G.H.; (1970); "Absorción y Emisión de Energía Radiante"; Análisis Químico Cuantitativo; 1ª Edición Española; Ediciones del Castillo, S.A.; Madrid; p. 463-481.
 42. BOE nº 103, Martes 30 Abril 1985; 11997-12000; Orden del 19 de abril de 1985 por la que se establecen las normas de correcta fabricación y control de calidad de los medicamentos (7404).
 43. PUJOL, M.; SOUNS, J.M.; PLA, V.; GASTÓN, S.; (1989); "Validación de Métodos Analíticos"; La Validación: De la Teoría a la Práctica; X Encuentro de AEFI, Toledo, 5-7 octubre, 1989; Ed. Montesinos, A.G.; Madrid; p. 71-75.
 44. AZCONA, M.; MARTIN, A.; (1989); "Criterios del Centro Nacional de Farmacobiología sobre la Validación de Métodos Analíticos"; La Validación: De la Teoría a la Práctica; X Encuentro de AEFI, Toledo, 5-7 octubre, 1989; Ed. Montesinos, A.G.; Madrid; p. 77-101.
 45. SETNIKAR, I.; SENIN, P.; ARIGONI, R.; (1984); "Validation of Assay Methods in Pharmaceutical Q.C. Studies on Tiropramide Hydrochloride"; Boll. Chim. Farm.; **123**, p. 263-274.
 46. ALTMAN, D.G.; GARDNER, M.J.; (1988); "Calculating Confidence Intervals for Regression and Correlation"; Brit. Med. J.; **296**, 30, p. 1238-1240.

47. RAMPAZZO, P.; (1990); "Standardisation and Validation of Analytical Methods in the Pharmaceutical Industry"; Il Farmaco; 45, suppl. 6, p. 807-815.
48. GARCES, J.; MARINE, A.; CODONY, R.; (1989); "Evaluación y Control de los Métodos de Análisis Químico (VII). Control de Calidad Interlaboratorios: Determinación de la Repetibilidad y Reproducibilidad por Ensayos Interlaboratorios (Segunda Parte)"; C.I.F.; 2ª época; 8, p. 191-202.
49. FONTANI, F.; PRELINI, R.; RONCHI, M.C.; ZANOTTI GEROSA, A.; (1987); "Criteri di Convalida dei Metodi d'Analisi"; Boll. Chim. Farm.; 126, p. 66-74.
50. NOGUEIRA PRISTA, L.; CORREIA ALVES, A.; MORGADO, R.; (1981); "Formas Farmacéuticas Obtidas por Divisão Mecânica"; Técnica Farmacêutica e Farmácia Galénica; 3ª Edición; vol. 1; Fundação Calouste Gulbenkian; Lisboa; p. 744-745.
51. FRIAS, M.; (1990); Nuevas Aplicaciones de Técnicas Instrumentales en la Valoración de las Características de los Materiales Puzolánicos y su Reactividad; Tesis Doctoral presentada por el Departamento de Química de la Facultad de Ciencias de la U.A.M.; Madrid; p. 16-17.
52. VILLARI, A.; FICARRA, P.; FICARRA, R.; TOMMASINI, S.; (1991); "Methods for Particle Size Determination in Powders of Pharmaceutical Interest. Note III. Disodium Chromoglycate Application"; Il Farmaco; 46, 3, p. 521-526.
53. FRIAS, M.; DE LUXAN, M.P.; SANCHEZ DE ROJAS, M.I.; (1988); "Espectrometría de difracción por rayos Láser"; Materiales de Construcción; 38, 212, p. 37-52.
54. HEUER, M.; LESCHONSKI, K.; (1985); "Resultados obtenidos con un nuevo instrumento para la medición de las distribuciones del tamaño de partículas a partir de difractogramas patrones"; Part. Charact.; 2, p. 7-13.

55. FONNER, D.E.; ANDERSON, N.R.; BANKER, G.S.; (1981); "Granulation and Tablet Characteristics"; Parmaceutical Dosage Forms: Tablets; (H.A. Lieberman and L. Lachman, eds.); Vol. 2; Marcel Dekker, Inc.; New York; p. 191-196.
56. MARTIN, A.N.; (1967); "La Solubilidad"; Principios de Físico-Química para Farmacia y Biología; Ed. Alhambra; Madrid; p. 357-414.
57. WOLKOFF, H.N.; (1970); "Liquids. Formulation Consideration"; The Theory and Practice of Industrial Pharmacy; (L. Lachman, H.A. Lieberman and J.L. Kanig, eds.); Lea & Febiger; Filadelfia; p. 445-449.
58. CASADIO, S.; (1972); "La Soluzione"; Tecnología Farmacéutica; vol. 1; 2ª Edición; Cisalpino-Goliardica; Milan; p. 299-315.
59. FINI, A.; ZECCHI, V.; TARTARINI, A.; (1985); "Dissolution Profiles of NSAID Carboxylic Acids and their Salts with Different Counter Ions"; Pharm. Acta Helv.; **60**, p. 58-62.
60. CHIARINI, A.; TARTARINI, A.; (1984); "pH-Solubility Relationship and Partition Coefficients for some Anti-Inflammatory Arylaliphatic Acids"; Arch. Pharm. (Weinheim); **317**, p. 268-273.
61. FINI, A.; ZECCHI, V.; RODRIGUEZ, L.; TARTARINI, A.; (1984); "Solubility-Dissolution Relationship for Ibuprofen, Fenbufen and their Sodium Salts in Acid Medium"; Pharm. Acta Helv.; **59**, p. 106-108.
62. LIM, J.K.; CHEN, C.C.; (1974); "Effect of Selected Surfactants, above and below the CMC, on Aspirin Solubility"; J. Pharm. Sci.; **63**, 4, p. 559-562.
63. MUKERJEE, P.; (1971); "Analysis of Distribution Model for Micellar Solubilization Using Thermodynamics of Small Systems: Nonideality of Solubilization of Benzoic Acid Derivatives in Nonionic Surfactants"; J. Pharm. Sci.; **60**, 10, p. 1531-1534.
64. NAJIB, N.M.; SALEM, M.A.S.; (1987); "Release of Ibuprofen from Polyethylene-glycol Solid Dispersions:

- Equilibrium Solubility Approach"; Drug Dev. Ind. Pharm.; **13**, p. 2263-2275.
65. MURA, P.; LIGNORI, A.; BRAMANTI, G.; (1987); "Preparation and Dissolution Characteristics of Solid Dispersions of Ibuprofen in Various Polyethylene Glycols"; Il Farmaco. Ed. Pr.; **42**, 6, p. 149-164.
 66. MOHAMED, M.S.; GHAZY, F.S.; MAHDY, M.A.; (1985); "Dissolution Characteristics of Ibuprofen-Polyethylene Glycol 6000 Solid Dispersions"; Pharm. Ind.; **47**, 12, p. 1293-1295.
 67. RASOOL, A.A.; HUSSAIN, A.A.; DITTERT, L.W.; (1991); "Solubility Enhancement of Some Water-Insoluble Drugs in the Presence of Nicotinamide and Related Compounds"; J. Pharm. Sci.; **80**, 4, p. 387-393.
 68. BROSSARD, C.; WOUESSIDJEW, D.; (1990); "Contrôle de Dissolution des Formes Pharmaceutiques Orales Solides à Libération Ralentie"; S.T.P. Pharma; **6**, 10, p. 728-741.
 69. GIBALDI, M.; FELDMAN, S.; (1967); "Establishment of "Sink" Conditions in Dissolution Rate Determinations. Theoretical Considerations and Application to Nondisintegrating Dossage Forms"; J. Pharm. Sci.; **56**, 10, p. 1238-1242.
 70. WEIBULL, W.; (1951); "A Statistical Distribution Function of Wide Applicability"; J. Appl. Mechanics; **18**, p. 293-297.
 71. BAICHWAL, M.R.; DESHPANDE, S.G.; SHETTY, U.C.; (1985); "Comparative Evaluation of Four Dissolution Apparatuses"; Drug. Dev. Ind. Pharm.; **11**, p. 1639-1656.
 72. LIN, S.; MENIG, J.; SWARTZ, C.J.; (1970); "Comparative Evaluation of Various Dissolution Apparatus for Capsule Dosage Forms"; J. Pharm. Sci.; **59**, 7, p. 989-994.
 73. MARTINEZ, R.; LLABRÉS, M.; VILA-JATO, J.L.; GÓMEZ AMOZA, J.L.; (1986); "Estimación de la Velocidad Intrínseca de Disolución en Sistemas de Disolución

- sin Recirculación de Fluido y sin Reservorio de Acumulación"; C.I.F.; 2ª época; 5, p. 189-193.
74. Mc NAMARA, D.P.; AMIDON, G.L.; (1988); "Reaction Plane Approach for Estimating the Effects of Buffers on the Dissolution Rate of Acidic Drugs"; J. Pharm. Sci.; 77, 6, p. 511-518.
 75. SHUKLA, A.J.; PRICE, J.C.; (1989); "Effect of Drug (Core) Particle Size on the Dissolution of Theophylline from Microspheres Made from Low Molecular Weight Cellulosa Acetate Propionate"; Pharm. Res.; 6, p. 418-422.
 76. HALEBION, J.; MCCRONE, W.; (1969); "Pharmaceutical Applications of Polymorphism"; J. Pharm. Sci.; 58, 8, p. 911-929.
 77. WALKLING, W.D.; SISCO, W.R.; NEWTON, M.P.; (1986); "Stability of Fenretinide Polymorphs"; Acta Pharm. Technol.; 32, p. 10-12.
 78. BETTINETTI, G.P.; (1988); "Analisi del Polimorfismo di un Farmaco"; Il Farmaco, Ed. Pr.; 43, 3, p. 71-99.
 79. FLORENCE, A.T.; ATTWOOD, D.; (1988); "Properties of the Solid State"; Physicochemical Principles of Pharmacy; 2ª Edición; Mac Millan Press; Hong Kong; p. 21-32.
 80. CARAMELLA, C.; (1985); "Intrinsic Dissolution Rate: Contribute to pre-formulation study"; Focus on Modern Characterization Technologies of Raw Materials; Symposium AFTI-AFI; Lugano.
 81. FINI, A.; DE MARÍA, P.; GUARNIERI, A.; VAROLI, L.; (1987); "Acidity Constants of Sparingly Water-Soluble Drugs from Potentiometric Determinations in Aqueous Dimethyl Sulfoxide"; J. Pharm. Sci.; 76, 1, p. 48-52.
 82. ALBERT, A.; SERJEANT, E.P.; (1971); "Methods Commonly Used for Determining Ionization Constants"; The Determination of Ionization Constants; 2ª Edición; Chapman & Hall; London; p. 4-6.

83. CADORNIGA, R.; CAMACHO, M.A.; JIMÉNEZ, M.I.; PÉREZ, I.; (1985); "Determinación de la Constante de Disociación (K_a) de Compuestos que Presentan Elevada Lipofilia"; C.I.F.; 2ª época; 4, p. 320-324.
84. LEVILLAIN, P.; FOMPEYDIE, D.; (1985); "Determination of Equilibrium Constants by Derivative Spectrophotometry. Application to the pK_a of Eosin"; Anal. Chem.; 57, 13, p. 2561-2563.
85. HAFKENSCHIED, T.L.; TOMLINSON, E.; (1986); "Estimation of Physicochemical Properties of Organic Solutes Using HPLC Retention Parameters"; Adv. Chromatogr.; 25, p. 1-62.
86. NAVAS, M.J.; JIMENEZ TRILLO, J.L.; ASUERO, A.G.; (1985); "Métodos Gráficos para la Determinación Espectrofotométrica de Constantes de Acidez"; Boll. Chim. Farm.; 124, p. 439-450.
87. BRÈS, J.; BRESSLLE, F.; HUGUET, M.T.; (1976); "Importance de la Dissociation Ionique del Médicaments en Pharmacocinétique. Méthodes de Détermination de leus pK_a "; Trav. Soc. Pharm. Montpellier; 36, p. 331-364.
88. ASUERO, A.G.; (1989); "Evaluation of Acidity Constants of Two-step Overlapping Equilibria of Diacid Bases and Dibasic Acids from Solubility Measurements when Intrinsic Solubility is Known"; Acta Pharm. Technol.; 35, p. 243-246.
89. MIZUTANI, M.; (1925); "Die Dissoziation der Schwachen Elektrolyte in Wässerig-alkoholischen Lösungen II. Die Beziehungen Zwischen Chemischer Konstitution und Alkoholempfindlichkeit der Säuren und Basen"; Zeitsch. f. Physik. Chemie; 116, p. 350-358.
90. YASUDA M.; (1959); "Dissociation Constants of some Carboxylic Acids in Mixed Aqueous Solvents"; Bull. Chem. Soc. Japan.; 32, 5, p. 429-432.
91. ONG, K.C.; ROBINSON, K.A.; BATES, R.G.; (1964); "Interpretation of Potentiometric Titrations of Weak Acids in Methanol-Water Solvents"; Anal. Chem.; 36, 10, p. 1971-1972.

92. ALBERT, A.; SERJEANT, E.P.; (1971); "The Ionization Constants of Typical Acids and Bases"; The Determination of Ionization Constants; 2ª Edición; Chapman & Hall; London; p. 82-98.
93. SUZUKI, H.; AKIMOTO, K.; NAKAGAWA, H.; SUGIMOTO, I.; (1989); "Quantitative Analysis of Trazodone Hydrochloride in Tablets by an Ion-Selective Electrode"; J. Pharm. Sci.; 78, 1, p. 62-65.
94. GUPTA, S.P.; (1989); "QSAR Studies on Drugs Acting at the Central Nervous System"; Chem. Rev.; 89, p. 1765-1800.
95. VAN DE WATERBEEMD, H.; TESTA, B.; (1987); "Parametrization of Lipophilicity and other Structural Properties in Drug Design"; Advances in Drug Research; vol. 16; Academic Press; Londres; p. 85-225.
96. HANSCH, C.; LEO, A.; (1979); "The Fragment Method of Calculating Partition Coefficients"; Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology; John Wiley & Sons; New York; p. 18-43.
97. MAYER, J.M.; VAN DE WATERBEEMD, H.; TESTA, B.; (1982); "A Comparison Between the Hydrophobic Fragmental Methods of Rekker and Leo"; Eur. J. Med. Chem.; 17, 1, p. 17-25.
98. LEO, A.; HANSCH, C.; ELKINS, D.; (1971); "Partition Coefficients and Their Uses"; Chem. Rev.; 71, p. 525-616.
99. GIULIANI, E.; LEMBO, S.; SASSO, V.; SORRENTINO, L.; SILIPO, C.; VITORIA, A.; (1983); "Synthesis, Biological Data and Correlation Analysis in a Set of Analgesic Drugs"; Il Farmaco, Ed. Sc.; 38, 11, p. 847-864.
100. KUCHAR, M.; KRAUS, E.; JELINKOVÁ, M.; REJHOLEC, V.; MILLER, V.; (1985); "Thin-layer and High-Performance Liquid Chromatography in the Evaluation of the Lipophilicity of Aryloxoalkanoic and Arylhydroxyalkanoic Acids"; J. Chromatogr.; 347, p. 335-342.

101. COX, B.; WAIGH, R.D.; (1987); "The Octanol-Water Partition Coefficient of Mannich's Base"; J. Pharm. Pharmacol.; **39**, suppl., p. 117P.
102. BRAUMANN, T.; (1986); "Determination of Hydrophobic Parameters by Reversed-Phase Liquid Chromatography: Theory, Experimental Techniques, and Application in Studies on Quantitative Structure-Activity Relationships"; J. Chromatogr.; **373**, p. 191-225.
103. HAFKENSCHIED, T.L.; TOMLINSON, E.; (1986); "Estimation of Physicochemical Properties of Organic Solutes Using HPLC Retention Parameters"; Adv. Chromatogr. (N.Y.); **25**, p. 1-62.
104. TERADA, H.; (1986); "Determination of Log P_{oct} by High-Performance Liquid Chromatography, and its Application in the Study of Quantitative Structure-Activity Relationships"; Quant. Struct.-Act. Relat.; **5**, p. 81-88.
105. KALISZAN, R.; (1987); "Relationship between Liquid Chromatographic Retention Data and Partition Coefficients"; Quantitative structure-Chromatographic Retention Relationships; John Wiley & Sons; New York; p. 232-278.
106. COLLANDER, R.; (1951); "The Partition of Organic Compounds Between Higher Alcohols and Water"; Acta Chem. Scand.; **5**, p. 774-780.
107. HANSCH, C.; LEO, A.; (1979); "Partition Coefficients"; Appendix II; Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology; John Wiley & Sons; New York; p. 170-330.
108. NOGUEIRA PRISTA, L.; CORREIA ALVES, A.; MORGADO, R. (1981).; "Formas Farmacêuticas Obtidas por Divisão Mecânica"; Técnica Farmacêutica e Farmácia Galénica; 3a edición; vol. 1; Fundação Calouste Gulbenkian; Lisboa; p. 745-748.
109. VOIGT, R.; (1982); "Operaciones Tecnológicas fundamentales"; Tratado de Tecnología Farmacéutica; Ed. Acribia; Zaragoza; p. 65-69.

110. WEAST, R.C.; (1984); "Constant Humidities with Sulfuric Acid Solutions"; Handbook of Chemistry and Physics; 65 edition; Ed CRC Press; Florida; p. E-42, F-6.
111. MARTIN, A.; SWARBRICK, J.; CAMMARATA, A.; (1983); "Micromeritics"; Physical Pharmacy. Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences; 3ª edición; Ed. Lea & Febiger; Filadelfia; p. 492- 521.
112. BLATTNER, D.; KOLB, M.; LEUENBERGER, H.; (1990); "Percolation Theory and Compactibility of Binary Powder Systems"; Pharm. Res.; 7, p. 113-118.
113. CADÓRNIGA CARRO, R.; (1989); "La Enseñanza de la Farmacia en General y la Tecnología Farmacéutica en Particular"; Simposium Internacional sobre "Fundamentos biofarmacéuticos de la seguridad de calidad de los medicamentos"; Lima (Perú).
114. TORRES, A.I.; (1990); Desarrollo Galénico (Preformulación y Formulación) de Comprimidos de dos Nuevos Anticancerosos; Tesis Doctoral presentada por el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la U.C.M.; Madrid; p. 101-102.
115. NOGUEIRA PRISTA, L.; CORREIA ALVES, A.; MORGADO, R.; (1981); "Formas Farmacéuticas Obtidas por Divisão Mecânica"; Técnica Farmacéutica e Farmácia Galénica; 3ª edición; vol. 1; Fundação Calouste Gulbenkian; Lisboa; p.744-745.
116. DENÖEL, A.; JAMINET, F.; (1971); "Les capsules"; Pharmacie Galénique; Tome III; Les Presses Universitaires de Liege. A.S.B.L.; p. 243-247.
117. DELATTRE, L.; JAMINET, F.; (1974); "Etude de Quelques Facteurs Influençant le Pouvoir Lian d'excipients pour Compression Directe"; Pharm. Acta Helv.; 49, p. 108-120.
118. VOIGT, R.; (1982); "Fundamentos Físicos y Físicoquímicos de la Fabricación de Medicamentos"; Tratado de Tecnología Farmacéutica; 3ª edición; Ed. Acribia; Zaragoza; p. 95-98.

119. TORRES SUÁREZ, A.I.; (1990); Desarrollo Galénico (Preformulación y Formulación) de Comprimidos de dos Nuevos Anticancerosos; Tesis Doctoral presentada por el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la UCM; Madrid; p. 121-125.
120. FASSIHI, A.R.; KANFER, I.; (1987); "The Effect of Compressibility and Powder Flow Properties on Tablets Weight Variation"; Pharmaceutical Technology, Tableting Technology; vol. 1; (Ed. by Rubinstein, M.H.); Ellis Horwood Limited; Chichester; p. 189-202.
121. SANZ URGOITI, E.; VÁZQUEZ LÓPEZ, F.; (1986); "Reología de Materiales Pulverulentos-I. Aproximación a su Estudio"; C.I.F.; (2ª Época); 5; p. 350-353.
122. SANZ URGOITI, E.; VÁZQUEZ LÓPEZ, F.; (1986); "Reología de Materiales Pulverulentos-II. Parámetros Mecánicos. Determinación Modelos Experimentales". C.I.F.; (2ª Época); 5; p. 381-385.
123. CARR, R.L.; (1965); "Evaluating Flow Properties of Solids"; Chem. Eng.; 72; p. 163-165.
124. PARASRAMPURIA, J.; GUPTA, V.D.; (1989); "Preformulation Studies of Acetazolamide: Effect of pH, Two Buffer Species, Ionic Strength, and Temperature on Its Stability"; J. Pharm. Sci.; 78, 10, p. 855-857.
125. PRAMAR, Y.; GUPTA, V.D.; (1991); "Preformulation Studies of Spironolactone: Effect of pH, Two Buffer Species, Ionic Strength, and Temperature on Stability"; J. Pharm. Sci.; 80, 6, p. 551-553.
126. BENTEJAC, R.; BEAUTEMPS, R.; BOSTSARRON, A.M.; BRUYNINCKX, M.; CAPORAL-GAUTIER, J.; CHANON, N.; FOURNIAT, J.; LÉVY, G.; MALFROID-BOREL, F.; NIVET, J.M.; PELLERIN, F.; PESEZ, M.; ROCHE, Y.; (1991); "Les Essais de Stabilité sur les Principes Actifs et le produit Fini. Rapport d'une Commission SFSTP"; S.T.P. Pharma Pratiques; 1, 1, p. 11-24.
127. CHIMICHI, S.; INNOCENTI, F.; ORZALES, G.; (1980); "Thermal Decomposition of Ibuprofen"; J. Pharm. Sci.; 69; 5, p. 521-523.

128. FRANQUESA GRANER, R.; (1977); "Determinación de la Fecha de Caducidad de Medicamentos Mediante Corto Almacenamiento a la Temperatura Ambiente"; C.I.F.; 9, p. 183-192.
129. YOSHIOKA, S.; CARSTENSEN, J.T.; (1989); "Rational Storage Conditions for Accelerated Testing of Stability of Solid Pharmaceuticals"; J. Pharm. Sci.; 79, 10, p. 943-944.
130. CARSTENSEN, J.T.; DANJO, K.; YOSHIOKA, S.; UCHIYAMA, M.; (1987); "Limits to the Concept of Solid-State Stability"; J. Pharm. Sci.; 76, 7, p. 548-550.
131. YOSHIOKA, S.; ASO, Y.; UCHIYAMA, M.; (1987); "Statistical Evaluation of Nonisothermal Prediction of Drug Stability"; J. Pharm. Sci.; 76, 10, p. 794-798.
132. YOSHIOKA, S.; CARSTENSEN, J.T.; (1990); "Non-linear Estimation of Kinetic Parameters for Solid-State Hydrolysis of Water-Soluble Drugs. II: Rational Presentation Mode below the Critical Moisture Content"; J. Pharm. Sci.; 79, 9, p. 799-801.
133. NIELSEN, N.M.; BUNDGAARD, H.; (1988); "Glycolamide Esters as Biolabile Prodrugs of Carboxylic Acid Agents, Synthesis, Stability, Bioconversion, and Physicochemical Properties"; J. Pharm. Sci.; 77, 4, p. 285-298.
134. JACKSON, C.; CRABB, T.A.; GIBSON, M.; GODFREY, R.; SAUNDERS, R.; THURSTON, D.E.; (1991); "Studies on the Stability of Trimelamol, a Carbinolamine-Containing Antitumor Drug"; J. Pharm. Sci.; 80, 3, p. 245-251.
135. FUNKE, C.W.; HINDRIKS, H.; SAM, P.; (1990); "Physicochemical Properties and Stability of Trans-5-Chloro-2-methyl-2,3,3a,12b,Tetrahydro-1H-dibenz[2,3:6,7]oxepino[4,5-c]pyrrolidine Maleate"; Arzneim. Forsch./ Drug Res.; 40(I), 5, p. 536-539.
136. MANNELLI, M.; GIGLI, P.; ORZALES, G.; (1980); "Ricerca delle Impurezze Potenziali nell' Ibuproxam Nuova Materia Prima da Impiegarsi in Specialità Medicinali"; Boll. Chim. Farm.; 119, p. 417-422.

VI . - ANEXOS

ANEXO I**Programas de ordenador**

- EVA. Validación de métodos analíticos. Técnicas de inferencia estadística; Software, versión 2-0; 1990; Copyright Ramón Franquesa Graner.
- Corrección de resultados de ensayos de velocidad de disolución y cálculo de los parámetros de la ecuación de Weibull; Ana Isabel Torres Suárez; Tesis Doctoral presentada por el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la U.C.M.; Madrid; 1990; p. 520.
- SECEM. Sistema de estudio y comprobación de la estabilidad de medicamentos; Software, versión 3.00; 1989; Copyright Ramón Franquesa Graner.

ANEXO II**Fuentes Oficiales**

- European Pharmacopeia. 2ª edición (1980-1990). Council of Europa. Ed. by Maisonneuve S.A. Sainte Ruffine. France.
- United States Pharmacopeia (USP XXII). National Formulary (N.F. XVII). USP Convention Inc. Rockville; 1989.
- British Pharmacopeia (BP). Volumen I y II. Ed. Her Majesty's Stationery Office. London, 1988.
- Guidelines for Submitting Documentation for the Stability of Human Drugs and Biologics; Center for Drugs and Biologics; FDA, Department of Health and Human Services; Rockville, MD; February, 1987.