



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**TÍTULO:**

**ESTUDIOS DE ESTABILIDAD ACELERADA EN  
MEDICAMENTOS**

Autor: Laura Palenzuela Bermejo

Fecha: Junio 2019

Tutor: Dolores Remedios Serrano López

## ÍNDICE

<b>1. Resumen.....</b>	<b>2</b>
<b>2. Introducción y antecedentes .....</b>	<b>2</b>
2.1 ICH y estabilidad.....	3
<b>3. Objetivos .....</b>	<b>5</b>
<b>4. Metodología .....</b>	<b>5</b>
<b>5. Resultados y Discusión .....</b>	<b>6</b>
5.1 Estabilidad farmacéutica .....	6
5.2 Estudios APS vs Estudios ICH.....	6
5.3 Fundamento de un Estudio APS.....	7
5.3.1 Factores que intervienen en la degradación de medicamentos ..	8
5.4 Desarrollo de un estudio APS .....	11
5.4.1 Estudio de las características físicas de la muestra.....	13
5.5 Fotoestabilidad .....	15
5.6 Estabilidad en medicamentos Biológicos y Biotecnológicos .....	16
5.7 Discusión .....	18
<b>6. Conclusión .....</b>	<b>18</b>
<b>7. Bibliografía.....</b>	<b>19</b>

## **1. RESUMEN**

La estabilidad es un requisito que deben cumplir los medicamentos para su comercialización y, por tanto, de gran importancia para la industria farmacéutica.

Con el fin de asegurar que el medicamento va a ser estable a lo largo de su vida útil, se llevan a cabo los estudios de estabilidad, durante el proceso de desarrollo de un fármaco y tras su comercialización. Estos estudios se basan en la premisa de que la estabilidad de un medicamento puede verse comprometida por la influencia de factores ambientales. En el caso de los medicamentos biológicos deberán tenerse en cuenta consideraciones adicionales

En los estudios de estabilidad clásicos se somete al fármaco a distintas condiciones de temperatura y humedad, que variarán en función del tipo de estudio que vaya a realizarse; a largo plazo, intermedio o acelerado, así como, el lugar donde se vaya a comercializar, teniendo en cuenta la normativa fijada por el Comité Internacional de Armonización (ICH).

El problema de estos estudios es el tiempo empleado y el elevado coste para la industria. Con el objetivo de solventar este problema, se están introduciendo nuevos programas para la obtención de resultados de estabilidad a largo plazo mediante el uso de estudios acelerados bajo condiciones extremas, desde las primeras etapas de la obtención de fármacos.

Además de la temperatura y la humedad, también se estudia la influencia de la luz en la degradación de los fármacos. Los estudios de fotoestabilidad nos permiten caracterizar a los fármacos fotosensibles y establecer unas condiciones de almacenamiento y uso adecuados.

## **2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

Uno de los mayores retos en el desarrollo de medicamentos es asegurar unos parámetros de estabilidad aceptables para conseguir productos de calidad. Con estabilidad nos referimos a la capacidad del fármaco para permanecer inalterado durante su vida útil <sup>(1)</sup>. Para ello, debe conservar sus propiedades fisicoquímicas, farmacológicas y microbiológicas de manera que mantenga su eficacia y no se comprometa su seguridad <sup>(2)</sup>.

La estabilidad depende de factores ambientales fundamentalmente; estos son temperatura, humedad, luz ambiental y oxígeno, factores microbiológicos y, por otra parte, de las propiedades químicas y físicas de los principios activos y excipientes, así como las propiedades del envase <sup>(3)</sup>.

El propósito de las pruebas de estabilidad será, por tanto, comprobar que la calidad de un medicamento no varía a lo largo del tiempo bajo la influencia de temperatura, luz y humedad; establecer su vida útil y las condiciones adecuadas de almacenamiento para asegurar su correcta conservación.

Los estudios de estabilidad se realizan a lo largo de todo el proceso de desarrollo de un medicamento <sup>(4)</sup>:

## **1. Estudios en Preformulación**

Con ellos se pretende determinar los factores que afectan a la estabilidad del principio activo, obtener información sobre su estabilidad química y física, así como comprobar si es compatible con distintos excipientes.

## **2. Estabilidad en la forma de dosificación**

Se debe estudiar la estabilidad química del fármaco, así como la física y biofarmacéutica para determinar el período de validez, que solo puede establecerse tras haberse realizado los correspondientes estudios de estabilidad. Todo esto, variará en función de las condiciones climáticas del lugar donde vaya a ser almacenado. Para ello, se definen distintas zonas climáticas que se explicarán más adelante.

## **3. Para el expediente de registro**

La agencia reguladora exige que se presente información sobre estabilidad en producto terminado (en el material de acondicionamiento y el envase) y se aprobará la fecha de caducidad.

## **4. En el periodo posterior al registro**

El fabricante está obligado a efectuar estudios de estabilidad continuos y en tiempo real para corroborar el periodo de validez y las condiciones de almacenamiento previstas con anterioridad.

### **2.1. ICH y estabilidad**

Con el objetivo de regular y unificar los requerimientos mínimos de estabilidad exigidos para el registro de medicamentos, el 1 de enero de 1998 entra en vigor en la Unión Europea, Estados Unidos y Japón la directriz ICH Q1A elaborada por el Comité Internacional de Armonización que hace referencia a “Los Procedimientos de los Estudios de Estabilidad de Nuevos Principios Activos y Medicamentos”. Estas directrices se aplican a todos los laboratorios de fabricación, con ellas se evita la duplicidad de pruebas en el proceso de autorización y se definen las condiciones para llevar a cabo un estudio de estabilidad.

Aunque, a priori, estos documentos se hayan aprobado para la comercialización de medicamentos en las tres áreas citadas, muchas agencias reguladoras de otros países también los han adoptado. Cuando surgieron estas normas eran exclusivas de aplicación en países que se encontraban en las zonas climáticas I y II que se refieren a los países con climas templado y tropical respectivamente; no obstante, este interés de terceros países llevó al ICH a publicar un nuevo documento: ICH Q1F, en el que se definen las condiciones de almacenamiento de las muestras en los estudios de estabilidad cuando se pretende comercializar el medicamento en cualquiera de las otras dos zonas climáticas III y IV (climas cálido seco y cálido húmedo) <sup>(3, 5)</sup>.

Zona climática	Tipo de clima	Temperatura cinética media	Humedad relativa
I	Templado	21°C	45%
II	Subtropical	25°C	60%
III	Cálido, seco	30°C	35%
IV	Cálido húmedo	30°C	70%

Tabla 1: Definición de las zonas climáticas

La normativa ICH recoge tres tipos de estudios de estabilidad: a largo plazo, estudios intermedios y de estabilidad acelerada. Para cada uno de ellos, se establecen las condiciones de almacenamiento en cuanto a temperatura y humedad relativa <sup>(3)</sup>. (Tabla 2).

Tipo de estudio	Condiciones de almacenamiento	Período mínimo
Largo plazo	25°C ± 2°C /60% HR ± 5% HR o 30°C ± 2°C /65% HR ± 5% HR *	12 meses
Intermedio	30°C ± 2°C /65% HR ± 5% HR	6 meses
Acelerado	40°C ± 2°C /75% HR ± 5% HR	6 meses

Tabla 2: Condiciones generales de almacenamiento de muestras en los distintos estudios de estabilidad <sup>(3)</sup>.

\*El fabricante decide qué condiciones utilizar en el estudio. En caso de hacerse a 30°C ± 2°C /65% HR ± 5% HR no se lleva a cabo el estudio de estabilidad intermedia.

Las pruebas de estabilidad a largo plazo se realizan en un período mínimo de 12 meses, pudiéndose extender 2 años y se suelen realizar cada 3 meses. Tienen como objetivo estudiar el comportamiento de la sustancia medicamentosa en las condiciones de temperatura y humedad relativa del lugar donde se vaya a almacenar y comercializar y determinar así, su periodo de validez.

Los estudios de estabilidad acelerada e intermedios se llevan a cabo durante un periodo de 6 meses y nos aportan información sobre los efectos en la estabilidad del medicamento cuando este se encuentra fuera de las condiciones de almacenamiento definidas en cada zona climática. Estas condiciones se pueden romper por ejemplo durante la distribución, así, su objetivo principal será el de orientar sobre precauciones en la conservación del medicamento y apoyar los datos del periodo de validez.

En el caso de medicamentos que se deban diluir o reconstituir para su uso o bien que estén en envase multidosis y una vez abierto este sea susceptible a sufrir alteraciones, se realizan los Estudios de estabilidad en uso. Su objetivo es establecer las condiciones de almacenamiento y el periodo de validez una vez reconstituido o abierto. Todo ello debe figurar en el etiquetado <sup>(6, 7)</sup>.

Los resultados de estas pruebas se presentarán a la agencia correspondiente para la autorización de la comercialización del medicamento.

### **3. OBJETIVOS**

Los objetivos del presente trabajo son:

- Definir estabilidad farmacéutica.
- Describir las causas de inestabilidad de medicamentos, centrándonos en la temperatura y humedad como principales factores de estudio.
- Conocer el fundamento, aplicación e importancia de los Estudios de Estabilidad Acelerada en la industria farmacéutica durante el proceso de desarrollo de medicamentos.
- Explicar el desarrollo de un estudio de estabilidad APS.
- Definir fotoestabilidad y los estudios de fotoestabilidad
- Explicar los estudios de estabilidad en medicamentos biológicos y biotecnológicos.

### **4. METODOLOGÍA**

Se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en las Guías de calidad de la ICH Q1A (R2), Q1B y Q5C disponibles on-line. Así como, en libros recomendados de reciente publicación como “Accelerated Predictive Stability (APS). Fundamentals and Pharmaceutical Industry Practices”.

Además, se han consultado distintas bases de datos online como PubMed, Google Books, el catálogo CISNE de la UCM, Google Scholar, realizando búsquedas bajo los términos: “estudios de estabilidad acelerada”, “estabilidad ICH”, “Accelerated predictive stability”, “stress studies in drugs”, “estudios a largo plazo”, “fotoestabilidad”, “stability testing in biological products”.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Estabilidad farmacéutica

La estabilidad farmacéutica engloba aquellos aspectos relativos a estabilidad que mayor trascendencia tienen en relación con los medicamentos y las formas de dosificación. Hablamos de estabilidad química, física y biofarmacéutica.

Los procesos de **degradación química** tienen como resultado una pérdida de contenido de principio activo lo que lleva a una pérdida de eficacia y de seguridad si en este proceso de degradación se formaran productos tóxicos; por ello, han sido fruto de numerosos estudios y es este proceso de degradación el que se explica en los estudios de estabilidad acelerada que se expondrán a continuación.

Los problemas de **estabilidad física** suelen estar relacionados con alteraciones que experimentan los excipientes y que se reflejan en las propiedades mecánicas y en el aspecto de las formas de dosificación. Las características que se suelen ver afectadas son: apariencia, contenido en humedad, velocidad de disolución, tiempo de disgregación, resistencia a la fractura y la friabilidad (en el caso de las formas sólidas como los comprimidos). Su trascendencia práctica radica, sobre todo, en la pérdida de confianza del paciente y, aunque estos cambios no suponen la degradación del fármaco necesariamente, si se produce una modificación de las características biofarmacéuticas del principio activo en la formulación, se puede ver afectada su liberación y por tanto la biodisponibilidad. Este hecho se engloba dentro del concepto de “caducidad química” y constituye la denominada **estabilidad biofarmacéutica**, importante para establecer correctamente el período de validez <sup>(4)</sup>.

Además, es importante llevar a cabo un estudio de las características físicas del API, sobre todo del polimorfismo, antes de desarrollar un estudio de estabilidad, ya que los parámetros de estabilidad química se pueden ver comprometidos si se produjese un cambio en la estructura (cristalización de estructura amorfa).

### 5.2. Estudios APS vs estudios ICH

El problema de los estudios de estabilidad ICH es el tiempo que transcurre hasta la obtención de resultados. La industria se ve obligada a realizar formulaciones en paralelo por si los resultados fallasen. Así, muchas de las decisiones tomadas van a ser de tipo empírico y no basadas en un método científico. Por todo esto, se planteó la necesidad de introducir un método más rápido, fiable y basado exclusivamente en datos obtenidos a través de un modelo científico. Para diferenciarlos de los estudios ICH estos se incluyen, junto con los modelos predictivos computacionales, dentro del programa APS (*Accelerated Predictive Stability*) y siguen el principio de “obtener resultados de estabilidad a largo plazo mediante estudios de estabilidad a corto plazo”; muy atractivo para la industria que busca ahorrar tiempo y dinero.

Esto no se consigue acortando únicamente el tiempo de los estudios ICH en condiciones ambientales severas, con esto solo se obtendrían predicciones de tipo cualitativo; el nuevo enfoque se basa en la obtención de datos tipo cuantitativo <sup>(8)</sup>.

En este momento, muchas compañías farmacéuticas han adoptado al menos dos modelos de APS; el llamado ASAP (*Accelerated Stability Assessment Program*) y el ASM (*Accelerated Stability Modeling*). Ambos modelos se basan en la ecuación de Arrhenius para definir el comportamiento de las sustancias frente a la temperatura y humedad; que son las condiciones ambientales más importantes que afectan a la degradación de los medicamentos; y realizar así, predicciones de estabilidad de almacenamiento a largo plazo. Estos estudios se han utilizado también para la selección del envase más apropiado y la predicción de la vida útil <sup>(9)</sup>.

Los modelos APS pueden adaptarse a gran parte de las formas de dosificación que incluyen formas líquidas, en suspensión, polvos, formas semisólidas y sólidas y parches transdérmicos. Los APS se pueden aplicar, en lugar de las pruebas de estabilidad ICH, para la evaluación de estabilidad en el ciclo de vida de desarrollo de fármacos; durante el desarrollo, la fase de registro y postautorización <sup>(8)</sup>.

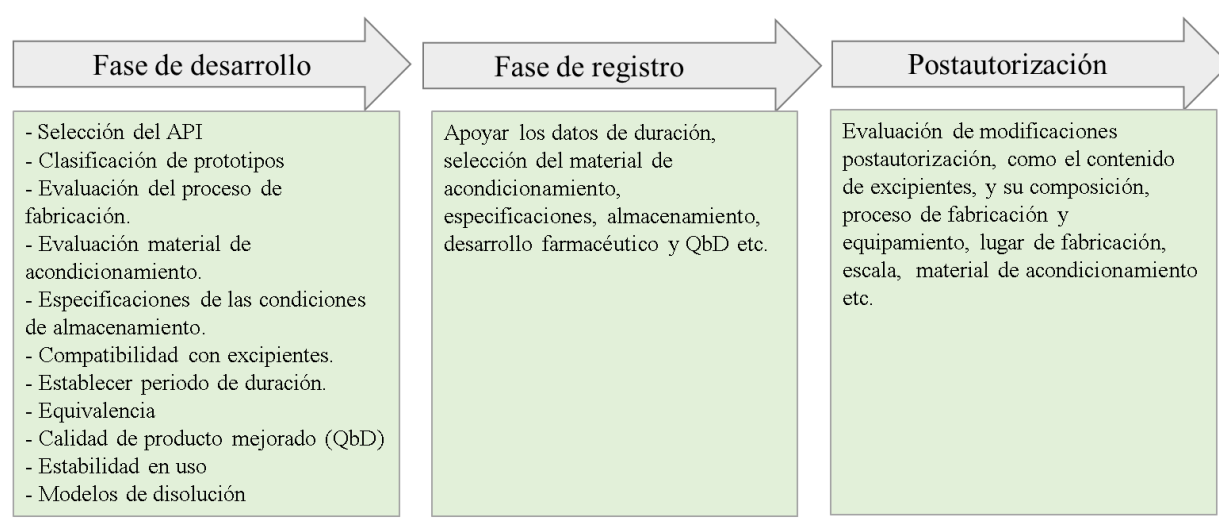


Figura 1: Áreas de aplicación de APS para el desarrollo de fármacos.

### 5.3.Fundamento de un estudio APS

El objetivo de estos estudios es degradar la muestra bajo los mismos mecanismos que se dan en condiciones de almacenamiento reales a largo plazo, pero bajo una escala de tiempo más corta y condiciones más extremas, también denominadas de estrés. Los datos resultantes de estabilidad proporcionarán información sobre las vías de degradación que es probable que ocurran en condiciones de almacenamiento a largo plazo y se puede hacer un modelo que prediga la rapidez con la que sucederán estos procesos bajo distintas condiciones de temperatura y humedad. Los estudios APS se basan en el concepto de que existen relaciones lineales entre la tasa de degradación y las condiciones de almacenamiento de una sustancia <sup>(8)</sup>.

Se han aplicado principalmente a medicamentos no biológicos, ya sea en estado sólido o en solución. La aplicación de estos estudios en medicamentos biológicos y medicamentos como suspensiones o cremas es posible, pero requiere de consideraciones adicionales, como puede ser los estudios de estabilidad de proteínas en el caso de los medicamentos biológicos.



Este trabajo se centrará en describir los estudios sobre muestras sólidas. Los estudios APS realizados en soluciones comparten los mismos principios que los realizados en sólidos, excepto que la humedad no tiene en ese caso, ningún efecto sobre la degradación.

Para llevar a cabo un estudio de este tipo, es necesario diseñar cuidadosamente un protocolo que incluya: condiciones de temperatura y humedad del almacenamiento, tiempo de almacenamiento antes de las correspondientes tomas de muestra, número de lotes muestreados, número de replicados de cada lote e influencia de la luz <sup>(4)</sup>

### 5.3.1 Factores que intervienen en la degradación de los medicamentos

Hay que considerar dos tipos de factores; los conocidos como “factores externos” que se refieren a las condiciones de almacenamiento de las muestras y los “factores internos” que incluyen aspectos de la formulación como la elección de excipientes, la dosis, la concentración, el envasado o el pH, y de la sustancia farmacológica que incluyen la estructura química, tamaño de partícula y tipo de polimorfo.

Como se ha citado antes, los estudios APS se centran en observar los efectos de la temperatura y humedad que se tratan de “factores externos” <sup>(8)</sup>.

#### 1. Temperatura:

Las propiedades del fármaco que se ven afectadas por la exposición a altas temperaturas son:

- Químicas: pueden producirse reacciones de oxidación, reducción, hidrólisis, racemización, descarboxilación, polimerización, evaporación de disolventes, volatilización de aceites esenciales y de destrucción de sustancias termolábiles (proteínas).
- Físicas: pueden alterarse algunas propiedades originales como la apariencia o la uniformidad o bien el cambio de estructura amorfa a cristalina.
- Terapéuticas
- Toxicológicas: se pueden producir cambios en la toxicidad por formación de productos tóxicos

El grado en que se ven modificadas las propiedades de los medicamentos es variable y depende de la temperatura alcanzada y del tiempo de permanencia a dicha temperatura <sup>(7)</sup>.

En términos generales un incremento de la temperatura se acompaña de un aumento de la velocidad de degradación; los estudios APS recurren a la Ecuación de Arrhenius para explicar este hecho (Ec 1.) <sup>(8)</sup>:

$$k = A \cdot \exp\left(\frac{-Ea}{R \cdot T}\right) \quad (\text{Ec.1})$$

En la que:

K= constante de velocidad de degradación.

A= el factor de frecuencia o factor pre-exponencial, que es la frecuencia con la que se producen las colisiones entre átomos de moléculas.

Ea = energía de activación (J/mol ó Kcal/mol)

T = temperatura en Kelvin

R = constante de los gases ideales (8.314 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup> ó Kcal mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>)

Se suele utilizar la ecuación de Arrhenius en su forma logarítmica (Ec. 2.) <sup>(8)</sup>:

$$\ln k = \ln A - \left( \frac{E_a}{R \cdot T} \right) \quad (\text{Ec.2})$$

La energía de activación está relacionada con la temperatura; de manera que a mayor energía de activación mayor influencia tendrá la temperatura en la velocidad de reacción. Este hecho se ha tenido en cuenta en la elaboración de las guías ICH para dar recomendaciones sobre la duración de los ensayos.

La representación de la ecuación de Arrhenius (Fig. 2) en su forma logarítmica ( $\ln K$  frente a  $1/T$ ) nos da como resultado una línea recta cuya ordenada es  $\ln A$  y la pendiente,  $-E_a/R$ . Si la relación es verdadera se puede extrapolar para predecir la tasa de degradación (logarítmica) a temperaturas de almacenamiento a largo plazo <sup>(8)</sup>.

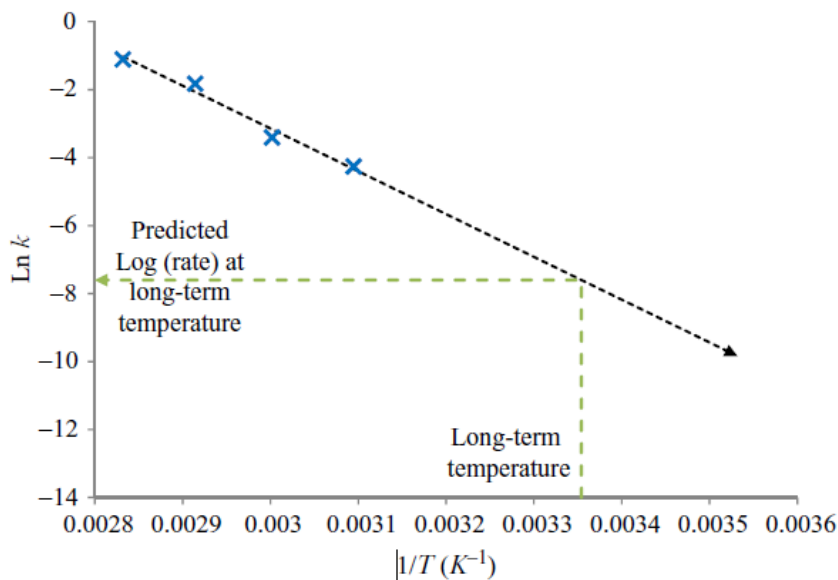


Figura 2. Representación de la Ecuación de Arrhenius en su forma Logarítmica.

En la figura se puede observar como el logaritmo neperiano de la constante de velocidad ( $K$ ) es mayor a temperaturas más altas ( $1/T$  menor), esto quiere decir que a mayor temperatura mayor coeficiente de velocidad ( $K$ ) de la reacción, de manera que la tasa de degradación será mayor.

Los cuatro puntos iniciales (marcados con una cruz) se corresponden con las condiciones de temperatura a las que se ha sometido al fármaco durante el estudio. Con estos puntos y las correspondientes constantes de velocidad obtenidas a partir de la ecuación de Arrhenius se traza una recta que extrapolando permite determinar la constante de velocidad de degradación de dicho medicamento en estudio en condiciones más suaves de temperatura, que se podrían dar durante el almacenamiento de esta en condiciones a largo plazo. Con esto, se puede predecir la vida útil de nuestra molécula.

## 2. Humedad

La presencia de agua afecta también a la tasa de degradación de las formas farmacéuticas sólidas, como se ha visto. El agua puede favorecer la movilidad molecular, es decir, la plasticidad o también puede estar directamente involucrada en reacciones químicas. En muestras sólidas puede estar presente en estado líquido como una solución en la superficie del sólido, adsorbida a la superficie o en forma de bolsas de aire en la atmósfera que las rodea o bien en el interior del sólido. La cantidad de agua varía en los distintos estados en función de la humedad relativa.

La Ecuación de Arrhenius clásica se utiliza para medicamentos en forma líquida. Por ello, para el estudio de formas sólidas, fue necesario modificar la ecuación e introducir el término de humedad. Este modelo basado en la Ecuación de Arrhenius explica la influencia de los efectos de la temperatura combinados con los de la humedad. (Ec. 3).<sup>(8)</sup>.

$$\text{Ln } k = \text{Ln } A - \left( \frac{Ea}{R \cdot T} \right) + B(\text{RH}) \quad (\text{Ec.3})$$

Donde:

B= factor de humedad

RH= humedad relativa (%)

Al aumentar la humedad relativa (RH) aumenta la velocidad de degradación.

Se ha observado que la humedad relativa (RH) afecta a la movilidad molecular y por tanto a la frecuencia de colisión entre las partículas y a la constante pre-exponencial de Arrhenius (A).

Uno de los modelos que se utilizan para representar la relación entre la temperatura y la humedad con la degradación de un medicamento basándose en la ecuación que se ha descrito (Ec.3) consiste en una trama tridimensional en la que la variable Ln k se encuentra en un plano con una pendiente de  $-Ea/R$  a lo largo del eje de temperatura y una pendiente de B a lo largo del eje de humedad relativa RH%. (Fig.3).

Ea es un parámetro de “sensibilidad a la temperatura” y B es un parámetro de “sensibilidad a la humedad”. Para calcular los coeficientes A,  $-Ea/R$  y B se recurre a un software estadístico que lleva a cabo una regresión multilineal que utiliza LnK como medida variable y  $1/T$  y RH como variables de entrada.

Es importante tener en cuenta que en este modelo la dependencia de la temperatura de la tasa de degradación es independiente de la humedad relativa, así como, la dependencia de la humedad de la degradación es independiente de la temperatura<sup>(8)</sup>.

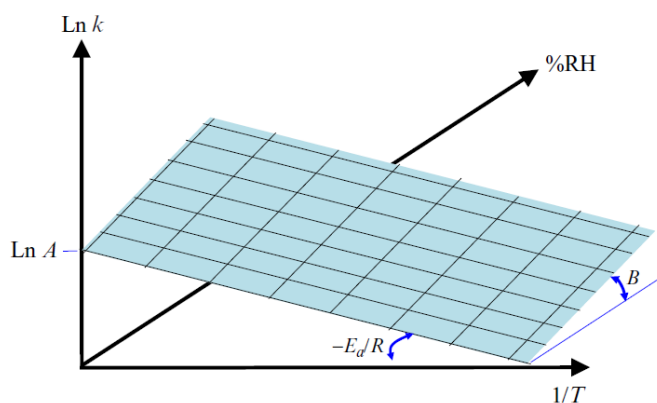


Figura 3. Representación de un modelo basado en la ecuación (Eq.3) en el que el Ln K varía linealmente con  $1/T$  y RH% sin interacción entre temperatura y humedad <sup>(8)</sup>.

Un requisito a la hora de llevar a cabo un estudio de estabilidad acelerada es que la molécula en estudio no puede modificar su forma física, por ejemplo, el cambio de estructura amorfa a cristalina que es más estable. Cualquier cambio de esta naturaleza puede dar lugar a un cambio en la cinética de degradación e invalidar las medidas obtenidas por extrapolación de almacenamiento a largo plazo. Por ello, antes de llevar a cabo un estudio, es necesario establecer unos límites de humedad y temperatura a partir de los cuales la sustancia pudiera modificar su forma física.

#### 5.4.Desarrollo de un estudio APS

Los estudios de estabilidad tradicionales se suelen llevar a cabo en material de acondicionamiento. Esto puede ocultar los verdaderos efectos de la humedad, ya que las condiciones ambientales dentro del envase no son fijas.

Los estudios APS requieren que la exposición a la temperatura y humedad del material de prueba sea exactamente conocida y fija; por lo tanto, se realizan primero sobre material sin envasar almacenado en un entorno controlado. Al diseñar el protocolo se fijan las condiciones de estabilidad (combinaciones de temperatura-humedad) y para cada una de ellas se decidirá la duración de la exposición y los puntos de muestreo. Se debe tener en cuenta todo conocimiento previo sobre estabilidad del medicamento de manera que no se someta a este a unas condiciones que degraden la muestra más allá de los límites especificados.

Se debe someter a la molécula en estudio a al menos cuatro condiciones de temperatura y humedad distintas; lo ideal serían cinco o seis (para obtener al menos 3 grados de libertad estadística). Cuanto más altas sean las temperaturas de exposición más cortos resultarán los estudios, pero también requieren extrapolaciones más largas en la ecuación de Arrhenius lo que puede disminuir la precisión del modelo especialmente si la trama de la ecuación no es lineal. El rango de humedad estudiado abarca normalmente aquel al que se podría ver expuesto el medicamento durante su comercialización. Desde un 5-10 % de humedad relativa para un producto desecado, hasta un 75% <sup>(8, 9)</sup>.

Es necesario utilizar varias muestras para asegurarse una medida fiable a tiempo inicial y localizar posibles errores. Para la mayoría de los tiempos se hace un análisis único, pero en un punto de tiempo intermedio, se utilizan también varias muestras para determinar la desviación estándar relativa (RSD), valor que se utilizará para las pruebas posteriores <sup>(9)</sup>.

Un ejemplo de un protocolo típico para un estudio destinado a predecir la vida útil de una formulación sería (Tabla.3) <sup>(9)</sup>:

Temperatura (°C)	Humedad (% HR)	Tiempos muestreo (semanas)
NA	NA	Inicial (duplicado)
50	30	2, 4, libre
50	75	2, 4, libre
60	11	2, 4, libre
60	50	2 (repetir cinco veces), 4, libre
70	30	1,2, libre, muestra sólida, muestra quirral (si fuese necesario).
70	75	1,2, libre, muestra sólida, muestra quirral (si fuese necesario)

Tabla:3 Protocolo para la determinación de la vida útil de una formulación. <sup>(9)</sup>

Para condiciones más suaves de temperatura y humedad el margen de tiempo entre las distintas tomas de muestra será mayor que en condiciones más extremas, que precisan de mayor control y mayor frecuencia de toma de muestra. El tiempo de muestreo libre que marca el protocolo, se elegirá en función de los resultados de los tiempos anteriores; en caso de que ya se haya observado degradación en la toma de muestra anterior podría no llevarse a cabo una nueva toma.

Para un estudio de vida útil que puede utilizarse como parte de la documentación para la autorización, se deben fijar al menos 6 condiciones de estudio haciendo por duplicado los ensayos en la muestra inicial y repetición de cinco veces de una muestra intermedia.

Las condiciones de temperatura y humedad deben variar de manera independiente de manera que se puedan estudiar por separado los efectos de cada variable (Fig.4) <sup>(9)</sup>.

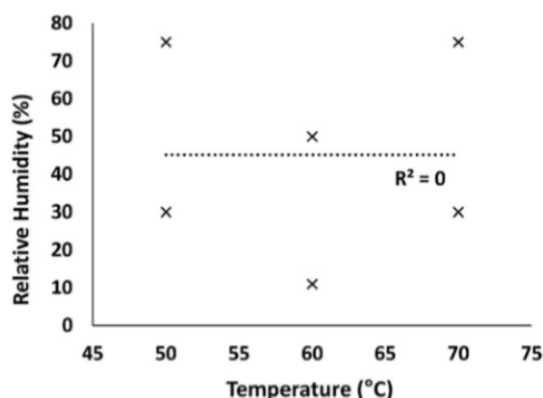


Figura 4: Relación entre temperatura y humedad relativa de los datos de la tabla 3 <sup>(9)</sup>

Las muestras se pueden introducir en hornos con soluciones de sal saturadas o disponibles comercialmente para controlar la humedad, en cámaras de estabilidad que controlan la temperatura y la humedad, o bien en sistemas de almacenamiento robotizados. Es necesario llevar a cabo una monitorización mediante sondas para asegurarnos que se están dando las condiciones deseadas y además, es importante asegurarnos que toda la degradación ocurra por la acción de humedad y temperatura de manera que, los medicamentos que sean fotosensibles deben protegerse de la luz <sup>(8,9)</sup>.

Antes de llevar a cabo el estudio, es necesario hacer un análisis de impurezas, que se suele hacer mediante cromatografía líquida (LC), para minimizar los errores <sup>(9)</sup>.

#### 5.4.1. Estudio de las características físicas de la muestra

Durante un estudio APS es necesario asegurarse que la degradación se produzca exclusivamente debido a cambios químicos y no físicos, o bien que estos cambios físicos sean insignificantes <sup>(1)</sup>.

Un cambio físico puede suponer un impacto en la estabilidad y por tanto afectar a la tasa de degradación química. Como resultado de este cambio físico, durante el estudio APS, los términos LnA, Ea y B de la ecuación de Arrhenius se van a ver alterados. Con el fin de mantener la fase física deseada y prevenir los cambios, es necesario hacer un estudio previo de los atributos del principio activo y todos los ingredientes de la formulación para que los límites de temperatura y humedad se puedan definir. Tales cambios pueden afectar al estado material como es la fusión o la disgregación o pueden producir la transformación de fase de los distintos polimorfos. Estos cambios se pueden inducir por la temperatura, la humedad o la combinación de ambas en un estudio APS. Por lo tanto, el primer paso a realizar antes de llevar a cabo un estudio será la evaluación de las propiedades fisicoquímicas de la sustancia.

Para prevenir la **fusión** de los componentes de la formulación es necesario fijar unas temperaturas que estén por debajo de los puntos de fusión de todos ellos. Afortunadamente, los excipientes para formulaciones orales suelen tener unas temperaturas de fusión que están por encima de las condiciones típicas de las pruebas (40-80°C). Sin embargo, se debe tener cuidado con los fármacos o excipientes que tengan puntos de fusión relativamente bajos. Además, cuando se mezclan excipientes y API en la formulación los puntos de fusión de cada uno de ellos pueden disminuir por lo que debe fijarse un margen de seguridad.

La **disgregación** es la transformación de fase de un sólido higroscópico, es decir, capaz de captar humedad, de manera que se disuelve parcialmente en el agua absorbida pudiendo formar una solución. Este punto de humedad en el que el sólido se disgrega se denomina humedad relativa crítica (HRC). Este hecho va a afectar a la estabilidad y, por tanto, si ocurre durante un estudio APS se van a ver modificados los datos. Los API y excipientes que suelen verse afectados más por este fenómeno son aquellos altamente solubles en agua como sales, azúcares, ácidos y bases orgánicas o vitaminas. De manera que, si en nuestra formulación tenemos componentes susceptibles a la disgregación, la humedad relativa a la que sometemos la muestra debe de estar por debajo de la humedad relativa crítica (HRC). Además, esta está relacionada

con la temperatura de almacenamiento ya que a temperaturas más altas aumenta la solubilidad y por tanto se reduce la humedad relativa crítica del compuesto <sup>(9)</sup>.

Los **cambios de fase de polimorfos** afectan a la estabilidad. El polimorfismo farmacéutico es la capacidad de los principios activos para adoptar diferentes configuraciones espaciales. Es decir, esto supone que algunas especies químicas sean capaces de agruparse en el espacio de forma variada originando estructuras cristalinas diferentes denominadas polimorfos.

Así, para un sólido amorfo es necesario considerar la cristalización de este, ya que pasamos de un estado en el que la movilidad molecular es mayor y la degradación será por tanto mucho más rápida, a un estado cristalino más estable. Si esto ocurre durante el estudio los datos de degradación calculados serán erróneos. Por ello, para sólidos amorfos es fundamental que las condiciones de temperatura a las que se les va a someter estén por debajo de la temperatura de transición del vidrio (TG) que más bien se trata de un rango de temperaturas debido a que es un proceso gradual. <sup>(9, 10)</sup>

### DESARROLLO DE UN ESTUDIO APS

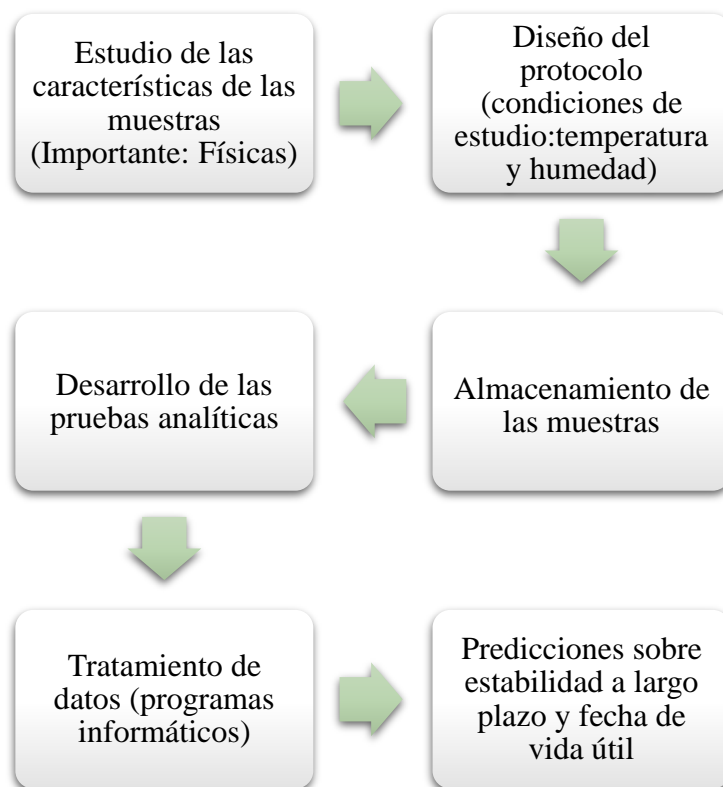


Figura 5: Diagrama de flujo de un estudio APS

## 5.5.Fotoestabilidad

Los fármacos, al igual que muchas sustancias químicas, son capaces de reaccionar al ser expuestos a la radiación electromagnética. Hablamos de la radiación con longitudes de onda entre 200 y 400 nm y la región visible con longitudes entre 400 nm y 800 nm. Las formulaciones se exponen a distintas fuentes de radiación durante su fabricación, envasado, distribución, durante su estancia en la oficina de farmacia y en el punto de uso. Estas exposiciones incluyen lámparas de Hg, luces fluorescentes e incandescentes, luz del sol indirecta o directa.

Aquellos fármacos que sufren fotorreacciones que pueden tener como resultado una disminución de su concentración y por tanto pérdida de eficacia, la formación de productos tóxicos estables, o la formación de intermediarios de vida corta tóxicos como radicales libres; se denominan fotosensibles. Así, las pruebas de fotoestabilidad se llevan a cabo para determinar el grado en que las fotorreacciones afectan a la composición del fármaco además de definir los posibles mecanismos. Consisten en iluminar los productos de manera controlada para determinar si son fotoestables, y en caso contrario cuantificar el grado de fotorreacción. Para que estas pruebas tengan validez predictiva a las condiciones reales en que se producen y manejan los medicamentos, las condiciones experimentales deben estar bien caracterizadas.

El Comité Internacional de Armonización (directrices de la ICH) explica las condiciones y métodos de los estudios de fotoestabilidad en su normativa ICH Q1B. Según esta normativa, el estudio se debe hacer de un solo lote, que se selecciona siguiendo una serie de directrices que fija el Comité. Las pruebas se llevan a cabo en el principio activo, en el medicamento fuera de su material de acondicionamiento y, si fuera necesario, en el interior de este y en el material de acondicionamiento.

Las directrices ICH especifican que las muestras deben ser expuestas a dos tipos de fuentes de radiación durante estas pruebas. La primera opción consiste en una lámpara de luz artificial fluorescente o bien una lámpara de arco de xenón o de halogenuros metálicos. La segunda opción es una lámpara fluorescente blanca fría o una lámpara fluorescente UV cercano <sup>(11, 12)</sup>.

Al contrario de la temperatura y humedad, el efecto de la luz en la degradación se puede controlar mejor durante la formulación y en el producto terminado con el uso de un material de acondicionamiento y directrices de almacenamiento adecuados. En el caso de las formas orales sólidas, el proceso fotoquímico tiene lugar en la superficie del producto. Por este motivo, muchas preparaciones sólidas están dotadas de un recubrimiento externo que las protege de la luz. En el caso de las formas farmacéuticas orales líquidas y para administración parenteral son particularmente susceptibles a la degradación en presencia de luz cuando se encuentran en solución o suspensión, por lo que en muchas ocasiones se comercializan en polvo liofilizado para su reconstitución y dilución en el momento de su uso. Además, el material de acondicionamiento utilizado tendrá como objetivo proteger de las radiaciones; por ejemplo, utilizando blísteres completamente opacos en el caso de las formas sólidas o bien el uso de frascos topacios para formas orales líquidas. Únicamente se extraerán del envase que los protege de la luz cuando vayan a ser administrados. Deben incluir en el prospecto y envase que se tratan de medicamentos fotosensibles y las formas adecuadas para su conservación. <sup>(7,13)</sup>.



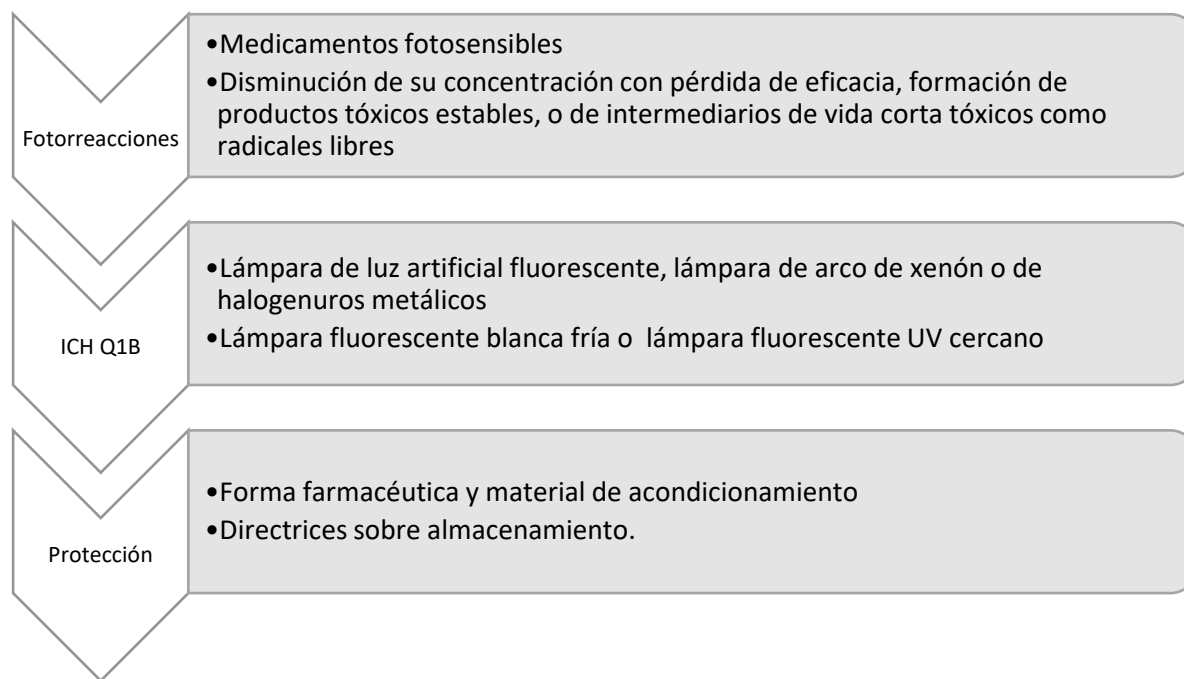


Figura 6: Esquema fotoestabilidad

### 5.6. Estabilidad en medicamentos biológicos y biotecnológicos

Los medicamentos biológicos son aquellos en los que en su fabricación se emplean organismos vivos- células animales o vegetales, bacterias, virus o levaduras. Los medicamentos biotecnológicos son medicamentos biológicos que se obtienen mediante técnicas de ingeniería genética.

Este grupo de medicamentos deben tener consideraciones adicionales con respecto del resto de fármacos. Los componentes activos son típicamente proteínas y/o polipéptidos, que son muy sensibles a los factores ambientales tales como cambios de temperatura, oxidación o luz; de manera que, pueden perder fácilmente su conformación molecular (que depende de fuerzas covalentes y no covalentes) y en consecuencia su actividad biológica. Con el fin de evitar este hecho, suelen establecerse condiciones estrictas de almacenamiento y la evaluación de la estabilidad requiere de metodologías analíticas complejas con estudios a largo plazo y a tiempo real para poder respaldar el período de validez.

El Comité Internacional de Armonización (ICH) establece en su normativa “ICH Q5C: Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products” las directrices de estabilidad de los medicamentos biológicos.

En general, no existe un único ensayo para determinar la estabilidad de un medicamento biológico. En consecuencia, el fabricante debe proponer un perfil de indicación de estabilidad por el que se puedan detectar cambios en la identidad, pureza y potencia del producto. En el momento de presentarse los documentos pertinentes para la aprobación de un nuevo medicamento biológico, deben cumplirse los perfiles de indicación de estabilidad.

Cuando la aplicación de un medicamento está ligado a una actividad biológica definida y medible, es necesario estudiar la potencia del medicamento dentro de los estudios de estabilidad. La potencia es la capacidad de un producto de lograr el efecto deseado. Se puede determinar mediante un método cuantitativo adecuado. En general, la potencia de los medicamentos biológicos ensayados por distintos laboratorios, solo se puede comparar de manera significativa si se expresa con relación a un material de referencia adecuado. Así, en los ensayos de potencia, deberá incluirse un material de referencia calibrado.

La pureza es otro parámetro que debe evaluarse en los estudios de estabilidad de medicamentos biológicos. El estudio de la pureza requiere varios métodos y se basa en la determinación de los productos de degradación que pueden resultar de reacciones de desaminación, oxidación, agregación o fragmentación durante el almacenamiento.

Además, se llevan a cabo métodos analíticos fisicoquímicos, bioquímicos e inmunoquímicos que permitan una caracterización exhaustiva del medicamento (tamaño molecular, carga, hidrofobicidad) como electroforesis, cromatografía de alta resolución o el mapeo de péptidos. (14)

### **Medicamentos biológicos frente a los factores ambientales:**

Dado que la mayoría de los medicamentos biológicos tienen establecidas unas temperaturas precisas de almacenamiento, los estudios en tiempo real se realizarán a las temperaturas propuestas.

En cuanto a la humedad, la normativa indica que los medicamentos biológicos deben distribuirse en recipientes que los protejan de la humedad. Por tanto, cuando se haya demostrado que el material de acondicionamiento cumple con los requisitos que aseguran la protección frente a altas y bajas condiciones de humedad, suelen omitirse las pruebas de estabilidad frente a distintas humedades relativas.

### **Estudios de estabilidad acelerada en medicamentos biológicos:**

Aunque la determinación de la fecha de validez de un medicamento biológico se base en datos de estabilidad en tiempo real, la normativa recomienda que se realicen estudios en principio activo y medicamento en condiciones aceleradas. Estos estudios pueden proporcionar datos de soporte para establecer el período de validez, proporcionar información sobre la estabilidad del producto para el desarrollo de futuros fármacos, ayudar en la validación de los métodos analíticos para el programa de estabilidad o aportar información sobre el perfil de degradación del fármaco en cuestión. Además, los estudios en condiciones de estrés pueden ser útiles para determinar si las exposiciones accidentales a condiciones que no sean las propuestas son perjudiciales para el medicamento y para evaluar qué parámetros pueden ser los mejores indicadores de estabilidad del fármaco. (14)

## **5.7. Discusión**

Los estudios de estabilidad acelerada que se encuentran dentro del programa APS, son un avance en la predicción de estabilidad de medicamentos sólidos, semisólidos y líquidos industriales. Son ventajosos con respecto a los estudios tradicionales ya que se lleva a cabo un análisis de muestras en etapas más tempranas que los estudios ICH, lo que lleva a la obtención de datos que nos van a predecir la estabilidad a largo plazo, desde que comienza el desarrollo de un medicamento.

Además, estos estudios se realizan en semanas mientras que los tradicionales requieren de hasta 12 meses como es el caso de los estudios a largo plazo. En definitiva, nos permiten verificar que nuestra formulación va a ser viable desde el principio, con ahorro de tiempo y dinero utilizando un método sustentado por bases científicas que nos aporta datos fiables sobre la caducidad.

Por otro lado, estos estudios presentan ciertas dificultades ya que, al requerir de condiciones tan extremas, es más difícil controlar que la muestra no se vaya a ver afectada; por ello es necesario un estudio exhaustivo previo de las características físicas. Además, son protocolos que se están empezando a introducir en los procesos de producción, por tanto, no están tan controlados como los estudios tradicionales. En el caso de los medicamentos biológicos, por sus especiales características, las condiciones de estrés pueden modificar la conformación molecular de los principios activos por lo que requieren especial atención y no sería el método más recomendable para estudiar su estabilidad.

## **6. CONCLUSIÓN**

Es innegable que la industria farmacéutica está muy regulada y que, hasta hace unos años era necesario un largo período de tiempo, que no aseguraba la obtención de resultados satisfactorios, para determinar, mediante los estudios ICH, si el medicamento que se pretendía comercializar cumplía con los requisitos de estabilidad. Esto, llevaba muchas veces a tomar decisiones de carácter empírico ante la necesidad de poner en el mercado un medicamento.

Los estudios de estabilidad acelerada que se encuentran dentro del programa APS son una forma novedosa y fiable de trabajar que nos proporciona predicciones sobre la vida útil del fármaco en estudio y reduce la incertidumbre con respecto a la viabilidad del medicamento en desarrollo. Lo más probable es que la tendencia en la industria durante los próximos años sea establecer este tipo de estudios en todo proceso de desarrollo de fármacos y, por tanto, se podrían cambiar las bases establecidas en el registro de medicamentos.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

1. Waterman K, Adami R. Accelerated aging: prediction of chemical stability of pharmaceuticals. *Int J Pharm.* 2005. p. 293:101–125.
2. I. Sánchez-Quiles, M.D. Nájera-Pérez, A. Espuny-Miró y J.C. Títos-Arcos. Revisión de la estabilidad de los medicamentos fotosensibles. *Farm Hosp.* 2011;35(4):204-215. Disponible en: [https://www.sefh.es/fh/117\\_121v35n04pdf010.pdf](https://www.sefh.es/fh/117_121v35n04pdf010.pdf).
3. International Conference on Harmonization (ICH). Stability Testing of New Drug Substances and Products (Revision 2) , ICH Harmonized Tripartite Guideline, ICH Q1A(R2) (CPMP/ICH/2736/99). Febrero de 2003.
4. Vila Jato J.L. Tecnología farmacéutica: Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas. Vol.1. Madrid: Síntesis; 2001. p. 317-362.
5. Torres Suarez A.I., Gil Alegre M.E. Globalización de los requisitos para la comercialización de medicamentos: importancia de la humedad ambiental en el diseño de los estudios de estabilidad. *An. R. Acad. Nac. Farm.* p.111-126.
6. Morales-Rico, Carmen Luisa; Sierra-Pérez, Roxana de la Caridad; González-Canavaciolo, Víctor Luis; Marrero-Delange, David; Vicente-Murillo, Roxana; Rodríguez-Leyes, Eduardo Antonio. Estudios de estabilidad acelerados y a largo plazo de nuevos lotes industriales del ingrediente activo D002. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, vol. 46, 2015, p. 102-106
7. Bobaira, M., Lorente, L., De la Rubia, M. and San Miguel, M. Conservación de medicamentos termolábiles, 2004. Disponible en: <https://www.sefh.es/pdfs/ConservacionDeMedicamentos.pdf>
8. Qiu, F. and Scrivens, G. Accelerated Predictive Stability (APS). *Fundamentals and Pharmaceutical Industry Practices*. 1st ed. London. 2018
9. Williams H. Predictive Stability Testing Utilizing Accelerated Stability Assessment Program (ASAP) Studies. In: Bajaj S., Singh S. (eds) *Methods for Stability Testing of Pharmaceuticals. Methods in Pharmacology and Toxicology*. Humana Press, New York. 2018.
10. Martín Á, Molina E. Polimorfismo Farmacéutico, 2006. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13094132>
11. Piechocki J, Thoma K. *Pharmaceutical photostability and stabilization technology*. New York: Informa Healthcare; 2007.
12. International Conference on Harmonisation (ICH) of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Stability testing: Photostability testing of New drug Substances and Products Q1B. 1996
13. Achau Muñoz r1, Gaspar Carreño m1, Andrés Avilés s1, Torrico Martín f1, Beltrán Daudén g2, Sánchez Santos JC3. Recomendaciones para garantizar la estabilidad de medicamentos fotosensibles. Hospital Intermutual de Levante. Valencia. (España) Con la colaboración del grupo de trabajo de la Sociedad Valenciana de Farmacia Hospitalaria (SVFH). *Rev. OFIL* 2017, 27;2:121-150.
14. International Conference Harmonization Topic Q5C Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products