



4

Aspectos básicos en el desarrollo de estudios de estabilidad de medicamentos y su aplicación en los servicios de farmacia

Vicente Merino Bohórquez



Vicente Merino Bohórquez

Facultativo Especialista de Área de Farmacia Hospitalaria,
Servicio de Farmacia, Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Índice

1. Introducción
2. Estabilidad de medicamentos: concepto
3. Factores que influyen en la estabilidad de los medicamentos
4. Desarrollo de estudios de estabilidad
5. Aspectos regulatorios de los estudios de estabilidad de medicamentos
6. Bibliografía

1. Introducción

La elaboración de medicamentos en los servicios de farmacia de los hospitales permite satisfacer las necesidades específicas de los pacientes hospitalizados, necesidades no siempre cubiertas por la industria farmacéutica. En los últimos años, el mayor desarrollo en este campo ha sido la evolución hacia una racionalización de dicha actividad, garantizando la eficacia clínica de estos preparados medicinales, al tiempo que se mejora su calidad.

El desarrollo racionalizado de esta actividad en las farmacias hospitalarias debería verse reforzado en el futuro por la aplicación de enfoques de análisis de riesgos destinados a eliminar la iatrogenia relacionada con los medicamentos. La elaboración de estos preparados no se limita al estudio de la viabilidad clínica y a las consideraciones técnicas inherentes a su fabricación. Los farmacéuticos deben asegurarse de que los preparados que elaboran se mantengan estables y, por tanto, conserven todas sus propiedades durante el tiempo de almacenamiento y hasta el momento en que se administran al paciente.

Además, muchas de las preparaciones elaboradas en las unidades centralizadas de mezclas intravenosas necesitan disponer de estudios de estabilidad que avalen periodos de validez superiores a los establecidos en las fichas técnicas de las agencias reguladoras y que, por norma general, no sobrepasan las 24-48 horas tras su reconstitución y dilución. Esto cobra una importancia vital en la elaboración de *stocks* y en medicamentos de alto impacto económico, donde la optimización de recursos es una tarea prioritaria.

El farmacéutico responsable del área de farmacotecnia tiene que disponer de datos de estabilidad fiables, y los estudios publicados en la bibliografía se asientan en bases metodológicas firmes. Tanto los estudios de estabilidad desarrollados en los servicios de farmacia, como la evaluación y lectura crítica de la bibliografía publicada, deberían seguir las directrices científicas que publica la Agencia Europea de Medicamentos sobre medicamentos de uso humano y que están armonizadas por la Conferencia Internacional de Armonización (ICH, *International Council*

for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) y por las que se rige la industria farmacéutica.

La estabilidad depende de factores ambientales, como: temperatura, humedad y luz ambiental, así como de otros factores que son propios del producto, como: las propiedades físicas y químicas del principio activo y de los excipientes utilizados, del proceso de fabricación para la transformación del mismo, así como del sistema de cierre del envase

utilizado, las propiedades de todos los materiales con los que han sido fabricados los envases y la compatibilidad entre el envase y el producto.

El farmacéutico es el responsable de evaluar la estabilidad y de establecer la caducidad y condiciones de conservación de una fórmula, para así poder garantizar la calidad y la actividad terapéutica desde el momento de su elaboración hasta su administración al paciente.

2. Estabilidad de medicamentos: concepto

La estabilidad de un medicamento se define como la medida en que un medicamento mantiene, dentro de unos límites especificados, y durante su periodo de almacenamiento y uso (es decir, su vida útil), las mismas propiedades y características que poseía en el momento de su fabricación.

Por tanto, a la hora de elaborar un medicamento, se deben evitar los componentes y las condiciones que puedan provocar un deterioro físico excesivo o descomposición química de la preparación que se esté elaborando.

La estabilidad (y, por tanto, el efecto clínico) sobre el medicamento elaborado pueden

verse comprometidos en gran medida por alteraciones aparentemente insignificantes o por componentes formulados de manera inapropiada. Por ello, se deben establecer y mantener las condiciones de formulación y elaboración que aseguren la estabilidad del fármaco para ayudar a prevenir el fracaso terapéutico y los eventos adversos. Los parámetros de estabilidad de un medicamento pueden verse influidos por las condiciones ambientales de almacenamiento (temperatura, luz, aire y humedad), así como por la composición de este.

En la Tabla 1, se describen los cinco tipos de estabilidad generalmente reconocidos.



Tipo de estabilidad	Condiciones mantenidas durante la vida útil del medicamento
Química	Cada ingrediente activo conserva su integridad química y potencia nominal dentro de los límites especificados.
Física	Se conservan las propiedades físicas originales, incluida la apariencia, la palatabilidad, la uniformidad, la disolución y la suspensibilidad.
Microbiológica	La esterilidad o la resistencia al crecimiento microbiano se mantiene de acuerdo con los requisitos especificados. Los agentes antimicrobianos presentes conservan su eficacia dentro de los límites especificados.
Terapéutica	El efecto terapéutico permanece sin cambios.
Toxicológica	No se produce un aumento significativo de la toxicidad.

Tabla 1. Tipos de estabilidad descritas en la *United States Pharmacopeia*.

3. Factores que influyen en la estabilidad de los medicamentos

En cuanto a los factores que pueden afectar a la estabilidad del medicamento o la formulación, hay que destacar la composición, ya que cada ingrediente, ya sea principio activo o excipiente, puede afectar a la estabilidad de los fármacos y/o a las formas farmacéuticas. Estos factores pueden dividirse en:

- Factores ambientales: incluyen la exposición a temperaturas adversas, luz, humedad, oxígeno y dióxido de carbono.
- Factores de la forma farmacéutica: incluyen el tamaño de partícula (especialmente en emulsiones y suspensiones), el pH, la composición del sistema disolvente (es decir, el porcentaje de agua "libre" y la polaridad general), la compatibilidad de aniones y cationes, la fuerza iónica de la solución, la concentración, los aditivos químicos específicos y la unión molecular y la difusión de fármacos y excipientes.

A continuación, vamos a describir los factores o procesos químicos que afectan a la forma farmacéutica, ya que van a ser los responsa-

bles de causar una pérdida del contenido en principio activo y, por lo general, no proporcionan una evidencia visual u olfativa obvia de su aparición. Así se pueden describir, como reacciones principales de degradación:

- **Hidrólisis:** los ésteres y las β -lactamas son los enlaces químicos que tienen más probabilidades de hidrolizarse en presencia de agua. Por ejemplo, el éster de acetilo del ácido acetilsalicílico se hidroliza a ácido acético y ácido salicílico en presencia de humedad, pero en un ambiente seco, la hidrólisis de la aspirina es insignificante. La tasa de hidrólisis del ácido acetilsalicílico aumenta en proporción directa a la presión del vapor de agua en un ambiente. El enlace amida también se hidroliza, aunque generalmente a un ritmo más lento en comparación con los ésteres, así, la procaína (un éster) se hidrolizará en autoclave, pero la procainamida, no. Por otro lado, el enlace amida o peptídico en péptidos y proteínas varía en la labilidad a la hidrólisis, y los enlaces lactama y azometina (o

imina) en las benzodiazepinas también son lábiles a la hidrólisis. Los principales aceleradores químicos o catalizadores de la hidrólisis son el pH adverso y las sustancias químicas específicas (por ejemplo, glucosa y cobre en el caso de la hidrólisis de ampicilina).

- **Epimerización:** los miembros de la familia de las tetraciclinas tienen más probabilidades de sufrir epimerización. Esta reacción se produce rápidamente cuando el fármaco disuelto se expone a un pH de un intervalo intermedio (superior a 3) y da como resultado el reordenamiento estérico del grupo dimetilamino. El epímero de tetraciclina, la epitetraciclina, tiene poca o ninguna actividad antibacteriana.
- **Descarboxilación:** algunos ácidos carboxílicos disueltos, como el ácido p-aminosalicílico, pierden dióxido de carbono del grupo carboxilo cuando se calientan. El producto resultante tiene una potencia farmacológica reducida. La β -descarboxilación del grupo ceto puede ocurrir en algunos antibióticos que tienen un grupo carbonilo en el carbono β del ácido carboxílico o un anión carboxilato. Dichas descarboxilaciones ocurrirán en los siguientes antibióticos: carbenicilina sódica, ácido libre de carbenicilina, ticarcilina sódica y ácido libre de ticarcilina.
- **Deshidratación:** en el caso de la tetraciclina, la deshidratación catalizada por ácido forma epianhidrotetraciclina, un producto que carece de actividad antibacteriana y causa toxicidad.
- **Oxidación:** las estructuras moleculares que tienen más probabilidades de

oxidarse son aquellas con un grupo hidroxilo directamente unido a un anillo aromático (por ejemplo, derivados de fenol, como catecolaminas y morfina), dienos conjugados (por ejemplo, vitamina A y ácidos grasos libres insaturados), anillos aromáticos heterocíclicos, nitroso y nitrito derivados y aldehídos (por ejemplo, aromatizantes). Los productos de oxidación generalmente carecen de actividad terapéutica. La identificación visual de la oxidación, por ejemplo, el cambio de epinefrina incolora a sus productos de color ámbar, puede no ser visible en algunas diluciones o detectarse a simple vista. La oxidación suele ser catalizada por valores de pH superiores a los óptimos, iones de metales pesados polivalentes (por ejemplo, cobre y hierro) y exposición al oxígeno o a la luz ultravioleta. Las dos últimas causas de oxidación justifican el uso de productos químicos antioxidantes, atmósferas de nitrógeno durante el llenado de ampollas y viales, envases externos opacos y envases de plástico o vidrio ámbar transparente.

- **Descomposición fotoquímica:** la exposición, principalmente, a la luz ultravioleta puede causar oxidación (fotooxidación) y escisión (fotólisis) de los enlaces covalentes. La nifedipina, el nitroprusiato, la riboflavina y las fenotiacinas, son muy lábiles a la fotooxidación. En compuestos susceptibles, la energía fotoquímica crea radicales libres intermedios, que pueden perpetuar reacciones en cadena.
- **Fuerza iónica:** el efecto de la concentración total de electrolitos disueltos sobre la velocidad de las reacciones de hidrólisis resulta de la influencia de la

fuerza iónica en la atracción interiónica. En general, la constante de velocidad de hidrólisis es inversamente proporcional a la fuerza iónica con iones con carga opuesta (por ejemplo, catión de fármaco y aniones del excipiente) y directamente proporcional a la fuerza iónica con iones de carga similar. Una reacción que produce un ion de carga opuesta al ion del fármaco original, debido al aumento de la fuerza iónica, puede aumentar la velocidad de hidrólisis del fármaco a medida que avanza la reacción. La alta fuerza iónica de las sales inorgánicas también puede reducir la solubilidad de otros fármacos.

- **Efecto del pH:** la degradación de muchos medicamentos en solución se acelera o desacelera exponencialmente a medida que el pH aumenta o disminuye en un rango específico de valores de pH. Un pH inadecuado junto con la exposición a temperaturas elevadas puede ser un factor determinante, con una mayor probabilidad de causar una pérdida clínicamente significativa de fármaco, como resultado de reacciones de hidrólisis y oxidación. Una solución o suspensión de fármaco, por ejemplo, puede ser estable durante días, semanas o incluso años en su formulación original, pero cuando se mezcla con otro líquido que cambia el pH, se degrada en minutos o días. Es posible que un cambio de pH de solo una unidad (por ejemplo, de 4 a 3 o de 8 a 9) pueda disminuir la estabilidad del fármaco en un factor de diez o más. Un sistema tampón o regulador del pH, generalmente, está compuesto por un ácido o base débil y su sal, es un excipiente habitual que se usa en preparaciones líquidas para mantener el pH en un ran-

go que minimiza la tasa de degradación del fármaco. El pH de las soluciones de fármacos también se puede tamponar o ajustar para lograr la solubilidad de estos. Por ejemplo, el pH en relación con el pK_a controla las fracciones de las especies de electrolitos orgánicos débiles normalmente más solubles ionizados y menos solubles no ionizados. También es importante la influencia del pH en la estabilidad física de los sistemas de dos fases, especialmente las emulsiones. Por ejemplo, la emulsión de grasa intravenosa se desestabiliza por el pH ácido.

- **Compatibilidad interiónica (ion N+ -ion N-):** la compatibilidad o solubilidad de los iones con carga opuesta depende principalmente del número de cargas por ion y del tamaño molecular de los iones. En general, es más probable que los iones polivalentes de carga opuesta sean incompatibles. Por tanto, es probable que se produzca una incompatibilidad tras la adición de un ion grande con una carga opuesta a la del fármaco.
- **Estabilidad en estado sólido:** las reacciones en estado sólido son relativamente lentas, por lo tanto, la estabilidad de los medicamentos en estado sólido rara vez es un problema de formulación. La tasa de degradación de los sólidos secos se caracteriza generalmente por una cinética de primer orden o una curva sigmoidea. Por lo tanto, los medicamentos sólidos con temperaturas de punto de fusión más bajas no deben combinarse con otros productos químicos que formarían una mezcla eutéctica. Cuando hay humedad, la descomposición del fármaco en estado sólido puede cambiar a una cinética química de orden cero,

porque la velocidad está controlada por la fracción relativamente pequeña del fármaco que existe en una solución saturada, que se encuentra (de manera imperceptible) en la superficie o en la mayor parte del producto sólido.

- **Temperatura:** en general, la velocidad de una reacción química aumenta exponencialmente por cada 10 °C de aumento en la temperatura. Esta relación se ha observado para casi todas las reacciones de hidrólisis de fármacos y algunas reacciones de oxidación. El factor real de aumento de velocidad depende de la energía de activación de la reacción en particular. La energía de activación es función del enlace reactivo específico y la formulación del fármaco (por ejemplo, disolvente, pH, aditivos). Como ejemplo, consideremos un medicamento hidrolizable que requiere refrigeración y que

está expuesto a un aumento de 20 °C de temperatura, se debe esperar que la vida útil del medicamento a esta temperatura disminuya entre una cuarta y una vigesimoquinta parte. Hay que tener también en cuenta, que las bajas temperaturas inadecuadas pueden causar problemas. Por ejemplo, la refrigeración puede causar una viscosidad extrema en algunos medicamentos líquidos y/o causar sobresaturación en otros. La solubilidad de una sustancia generalmente aumenta con la temperatura. Si se enfría una solución saturada, la solubilidad disminuirá y precipitará el exceso de soluto. La congelación puede romper o causar un gran aumento en el tamaño de los glóbulos de las emulsiones, puede desnaturalizar proteínas, y en casos raros, puede causar la formación de estados polimórficos menos solubles de algunos fármacos.

4. Desarrollo de estudios de estabilidad

El objetivo de las pruebas o estudios de estabilidad es proporcionar evidencia sobre cómo varía la calidad de una sustancia o producto farmacéutico con el tiempo bajo la influencia de una serie de factores ambientales, como la temperatura, la humedad y la luz, y establecer un periodo de vida útil para el producto farmacéutico y las condiciones de almacenamiento recomendadas.

La elección de las condiciones de estas pruebas o ensayos, vienen definidas por las guías (*guidelines*) de las normas de la ICH, basándose en un análisis de los efectos de las condiciones climáticas en las tres regiones de la Comunidad Europea, Japón y Estados Unidos.

El Consejo de la ICH es el único que reúne a las autoridades reguladoras y a la industria farmacéutica para debatir los aspectos científicos y técnicos de los productos farmacéuticos y elaborar las directrices de la ICH.

Desde su creación en 1990, la ICH ha evolucionado gradualmente para responder a los avances cada vez más globales en el sector

farmacéutico, y estas directrices de la ICH son aplicadas por un número cada vez mayor de autoridades reguladoras. La misión de la ICH es lograr una mayor armonización en todo el mundo para garantizar que se desarrollen medicamentos seguros, eficaces y de alta calidad, y que se registren y mantengan de la manera más eficiente posible en cuanto a recursos, cumpliendo al mismo tiempo con altos estándares.

Otras fuentes reconocidas para el desarrollo de estudios de estabilidad de medicamentos elaborados en hospitales es la guía francesa del *Groupe d'Évaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée* (GER-PAC), que se formó como grupo en 1998 y está constituido por farmacéuticos de hospital, profesores universitarios e investigadores. La guía titulada *Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations* es una herramienta muy útil para la gestión de los estudios de estabilidad centrados específicamente en el ámbito hospitalario. En el caso de desarrollar estudios de estabilidad más enfocados a preparados estériles, se pueden consultar los

protocolos normalizados del *National Health Services* (NHS) inglés, destinados a evaluar la estabilidad de preparados estériles que contengan moléculas químicas pequeñas (*A Standard Protocol for Deriving and Assessment of Stability. Part 1 – Aseptic Preparations [Small Molecules]*).

Para caracterizar la estabilidad de un medicamento, es fundamental desarrollar dos tipos de ensayos:

Ensayos fisicoquímicos:

Están destinados a verificar que las propiedades fisicoquímicas de las sustancias que componen el medicamento permanecen dentro del límite de especificaciones que dictan las farmacopeas, y para ello, se hace necesario la utilización de diversas técnicas analíticas y procedimientos que vienen descritos en las propias farmacopeas. Por tanto, si se realiza una revisión de la bibliografía publicada en análisis de impurezas y estudios de estabilidad de medicamentos, las técnicas más comúnmente utilizadas son las titrimétricas, las espectrofotométricas y las cromatográficas.

- **Técnicas titrimétricas y espectrofotométricas:**

Uno de los principales objetivos del estudio de estabilidad es cuantificar las impurezas orgánicas residuales, los productos de degradación inducidos por el estrés y los derivados relacionados de las impurezas. Pero para la mayoría de los casos, los métodos titrimétricos y espectroscópicos no son lo suficientemente sensibles. Debido a esta limitación, estos métodos no se utilizan para analizar muestras de estabilidad en la actualidad.

- **Cromatografía:**

Las pautas regulatorias actuales son muy estrictas con respecto a la cuantificación de impurezas en productos farmacéuticos. El método cromatográfico posee ventajas sobre otros en la separación de todos los compuestos en una sola pasada con buena selectividad, sensibilidad, exactitud, precisión y robustez. Por lo tanto, esta técnica se emplea ampliamente para desarrollar métodos indicadores de la estabilidad para la mayoría de los analitos, incluidos los compuestos no volátiles, sensibles al calor y altamente polares. Casi todos los métodos indicadores de estabilidad se desarrollan mediante el uso de un sistema de cromatografía líquida de ultra-rendimiento y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). El monitoreo y control de impurezas son hoy en día una consideración obligatoria y más importante para las industrias farmacéuticas.

Las industrias farmacéuticas están surgiendo con el objetivo de desarrollar nuevos medicamentos con regularidad. El control de las impurezas garantiza la seguridad y la eficacia de los productos farmacéuticos. En el pasado, las determinaciones de pureza no se utilizaron para realizar todo tipo de sustancia farmacéutica, debido a la falta de técnicas instrumentales adecuadas. Pero con la aparición de las técnicas cromatográficas modernas, la identificación de impurezas se vuelve más fácil. Esto permite al fabricante identificar la posible ruta de degradación de los fármacos activos y elaborar una estrategia para minimizar su presencia en el producto final.

Las técnicas combinadas, como la cromatografía líquida asociada a espectrome-

tría de masas (LC-MS) y la cromatografía líquida asociada a espectrometría de resonancia magnética nuclear (LC-NMR), se emplean con frecuencia para identificar y caracterizar los productos de degradación en el programa de pruebas de estabilidad. Dichas técnicas permiten dilucidar la estructura de las impurezas, lo que ayuda a tomar las precauciones necesarias para mantenerlas dentro del límite deseado. La elucidación de la estructura de las sustancias de degradación es importante para identificar las impurezas que podrían formarse por encima del límite aceptable durante los estudios de estabilidad en tiempo real o a largo plazo.

Estas nuevas tecnologías analíticas se utilizan ampliamente para desarrollar métodos indicadores de estabilidad. Cualquier impureza desconocida observada durante el desarrollo farmacéutico, la prueba de degradación forzada y los experimentos regulares de estabilidad de los fármacos activos y sus productos, se aíslan y analizan con procedimientos cromatográficos, como el HPLC, la cromatografía en capa fina, cromatografía de gases, la electroforesis capilar, la cromatografía de intercambio catiónico y la cromatografía de fluidos supercrítica.

Las técnicas combinadas: detección de matriz de diodos de HPLC (DAD), LC-MS, LC-NMR y la cromatografía de gases-espectrometría de masas se emplean en caso de dificultades en el aislamiento de degradantes en forma pura. Diversas publicaciones discutieron el papel de las técnicas con guiones en el aislamiento e identificación de los productos de degra-

dación y las impurezas de los productos farmacéuticos.

De todas las técnicas propuestas, se van a desarrollar más profundamente las técnicas de separación cromatográficas, concretamente la cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

Otros parámetros que hay que controlar para garantizar la estabilidad fisicoquímica son: el pH, la osmolaridad, el control de partículas, la viscosidad, la claridad, el color, el olor, etc., y dependiendo de la forma farmacéutica concreta (Tabla 2). En esta tabla, se recogen los ensayos recomendados en diferentes formas líquidas.

Ensayos microbiológicos:

La estabilidad microbiológica o la resistencia al crecimiento microbiano se debe mantener de acuerdo con los requisitos especificados, según el preparado (estéril o no estéril). Los agentes antimicrobianos presentes conservan su eficacia dentro de los límites especificados. Para un preparado estéril, se espera que no haya gérmenes, mientras que para los preparados que no son obligatoriamente estériles, existen en las distintas farmacopeas límites de tolerancia en gérmenes aerobios, levaduras y límites para gérmenes específicos. La estabilidad microbiológica de las formas farmacéuticas debe demostrar, por tanto, que estos límites han de estar garantizados y controlados durante el tiempo de vida útil del producto.

Las distintas farmacopeas están armonizadas en la metodología para demostrar la



	Soluciones orales	Soluciones dérmicas	Soluciones Inyectables	Colirios
pH	XXX	XXX	XXX	XXX
Partículas	X		XXX	XXX
Osmolaridad	X		XXX	XXX
Viscosidad	XXX			X
Claridad	X	X	XXX	XXX
Color	X	XXX	XXX	XXX
Olor	X	X	X	X

Tabla 2. Ensayos recomendados en diferentes formas farmacéuticas líquidas.

estabilidad microbiológica tanto de preparados estériles como no estériles, siendo exactamente igual la fuente de partida para desarrollar un método específico. Una propuesta de tiempos de muestreo en estudios de estabilidad microbiológica se presenta en la Tabla 3.

En función de la naturaleza microbiológica del medicamento (estéril o no estéril):

Medicamentos estériles

Habría que realizar dos tipos de ensayos:

- **Ensayo de promoción del crecimiento:** es un procedimiento de validación previo al estudio que tiene como objetivo demostrar la capacidad de crecimiento de diversos microorganismos en el preparado a estudiar.
- **Ensayo de esterilidad:** en este caso, la farmacopea recomienda la utilización de dos técnicas, la técnica de filtración a través de una membrana o de siembra directa del producto a examinar en el medio de cultivo. En ambos casos, habría que incluir controles negativos apropiados. La técnica de filtración a través de una membrana se utiliza siempre que la naturaleza del producto lo permita, es decir, para preparaciones acuosas filtrables, preparaciones alcohólicas u oleosas y preparaciones miscibles o solubles en disolventes acuosos u oleosos, siempre que estos disolventes no tengan un efecto antimicrobiano en las condiciones del ensayo. Si el producto a examinar tiene actividad antimicrobiana, habría que efectuar el ensayo después de haberla neutralizado con una sustancia adecuada o por dilución con una cantidad suficiente de medio de cultivo.

Medicamentos no estériles

Para el desarrollo de estudios de estabilidad microbiológica de formulaciones no estériles, los ensayos son más extensos y específicos que para las formulaciones estériles. En este caso, la farmacopea recomienda hacer un ensayo de recuento microbiano y un ensayo para microorganismos especificados. En general, estos ensayos deben hacerse sobre los envases en condiciones de utilización reales, por tanto, habrá que ensayar sobre envases cerrados por el tiempo determinado que dure el estudio y, posteriormente, hacer extensivo el estudio a los envases una vez abiertos, emulándose en este caso la posología determinada del preparado para que sea lo más parecido posible a las condiciones de uso en una situación real. Los ensayos que habría que realizar son:

- **Ensayo de promoción del crecimiento:** al igual que para los medicamentos estériles, habría que hacerlo para los estériles con el mismo objetivo descrito anteriormente.
- **Ensayo de recuento microbiano:** este ensayo consiste en realizar el recuento de las bacterias mesófilas y de los hongos y levaduras que pueden crecer en condiciones aerobias. Estos ensayos están concebidos en primer lugar para determinar si una sustancia o preparación satisface una especificación establecida de calidad microbiológica. Obviamente, estos métodos no son aplicables a productos que contienen microorganismos viables como ingredientes activos. Pueden usarse procedimientos microbiológicos alternativos, incluyendo métodos automatizados, siempre que haya sido demostrada su equivalencia



Tiempo de inicio (T0)	Tiempos de muestreo								
0				24 h	72 h	5 d	7 d		
0				7 d	15 d	22 d	30 d		
0		7 d	15 d	30 d	45 d	60 d	3 m		
0	7 d	15 d	30 d	45 d	60 d	90 d	120 d	6 m	
0	7 d	30 d	60 d	90 d	120 d	180 d	240 d	12 m	

d: días; h: horas; m: meses.

Tabla 3. Tiempos de muestreo en estudios de estabilidad microbiológica.

con el método de la farmacopea. Este procedimiento se debe desarrollar en condiciones que permitan evitar toda contaminación microbiana extrínseca del producto a examinar, y las precauciones tomadas para evitar la contaminación deben ser tales que no afecten a ninguno de los microorganismos que se han de detectar en el ensayo. Si el producto a examinar tiene actividad antimicrobiana, esta debe ser, en la medida de lo posible, eliminada o neutralizada, a través de inactivadores, en cuyo caso debe demostrarse su eficacia y la ausencia de toxicidad para los microorganismos. Si se utilizan sustancias tensioactivas para la preparación de las muestras, ha de demostrarse su ausencia de toxicidad para los microorganismos y su

compatibilidad con los inactivadores utilizados.

- **Ensayo de microorganismos específicos:** la presencia de determinados microorganismos en preparados no estériles puede reducir o incluso inactivar la actividad terapéutica del producto, y puede afectar negativamente a la salud del paciente. Por tanto, a la hora de la elaboración de una formulación o producto farmacéutico, es preciso garantizar una baja carga biológica de las formas farmacéuticas terminadas mediante la aplicación de ensayos específicos descritos en la farmacopea, las especificaciones de cada ensayo son específicos de la vía de administración y de la naturaleza del mismo.

5. Aspectos regulatorios de los estudios de estabilidad de medicamentos

Los estudios de estabilidad pueden clasificarse en:

- **Estudios de estabilidad de la ICH:** son estudios de estabilidad a temperatura y humedad controladas según la ICH en las condiciones de las zonas climáticas definidas.
- **Estudios de fotoestabilidad:** son estudios de estabilidad para evaluar la resistencia a la radiación luminosa.
- **Estudios de estabilidad en uso:** son estudios de estabilidad para la determinación de periodos de uso en productos multidosis o de reconstitución.
- **Estudios de estabilidad *on-going*:** son estudios de estabilidad en productos ya comercializados y que se encuentran distribuidos en el mercado.

A continuación, nos centraremos en los estudios de la ICH.

En 1990, nace la ICH como un proyecto conjunto entre las agencias reguladoras y

la industria. Su objetivo es mejorar a través de la armonización de sus reglamentos el proceso de desarrollo y registro de nuevos medicamentos en Europa, Estados Unidos y Japón. La ICH establece la normativa relativa a las condiciones en las que han de llevarse a cabo los estudios de estabilidad de nuevos principios activos y medicamentos en estos países (ICH Q1A a Q1F).

La condición climática cambia a medida que nos movemos por el mundo, lo que significa que esta es diferente en una parte diferente del mundo. La estabilidad del producto farmacéutico está influenciada por las condiciones climáticas. Por lo tanto, el estudio de estabilidad del producto farmacéutico debe estudiarse teniendo en cuenta las condiciones climáticas del país. Según las pautas de la ICH para estudios de estabilidad, el clima del mundo se divide en cinco zonas diferentes (zona I, II, III, IV). La zona IV se divide a su vez en dos, la zona IV-A y la zona IV-B (Tabla 4).

Como las zonas climáticas se diferencian en función de la temperatura y la humedad en las diferentes partes del mundo, la ICH

T04

Tabla 4.

Zona de estabilidad de la Conferencia Internacional de Armonización.

Zonas de estabilidad	Condición climática
Zona I	Zona templada
Zona II	Zona mediterránea/subtropical
Zona III	Zona seca caliente
Zona IV-A	Zona tropical caliente húmeda
Zona IV-B	Caliente/humedad más alta

ha definido diferentes condiciones de estabilidad para los estudios según la zona de estabilidad.

Las distintas condiciones de los estudios de estabilidad para un producto farmacéutico se detallan a continuación (Tablas 5-8).

Hay que tener en cuenta que la mayor parte de los estudios de estabilidad realizados en un servicio de farmacia hospitalaria, y publicados por la bibliografía especializada, desarrollan estudios en tiempo real (a largo plazo), en los que la duración del periodo de

estudio es mucho menor que para los medicamentos de fabricación industrial.

Por último, los estudios de estabilidad que se suelen desarrollar en los servicios de farmacia hospitalarios deben contar con unas condiciones experimentales básicas, como las descritas en la Tabla 9.

En definitiva, un estudio de estabilidad exitoso establece la vida útil del producto farmacéutico y las condiciones de almacenamiento apropiadas, pero también debe garantizar que los pacientes reciban un medicamento seguro, eficaz y de calidad.

T05

Tabla 5.
Condiciones para ensayos de estabilidad a largo plazo.

Zona de estabilidad	Temperatura	Humedad	Duración mínima
Zona I	21 °C ± 2 °C	45% HR ± 5% HR	12 meses
Zona II	25 °C ± 2 °C	60% HR ± 5% HR	12 meses
Zona III	30 °C ± 2 °C	35% HR ± 5% HR	12 meses
Zona IV-A	30 °C ± 2 °C	65% HR ± 5% HR	12 meses
Zona IV-B	30 °C ± 2 °C	75% HR ± 5% HR	12 meses

HR: humedad relativa.

T06

Tabla 6.
Condiciones para ensayos de estabilidad intermedia y acelerada.

Estudio	Condición de almacenamiento	Duración mínima
Intermedio	30 °C ± 2°C/65% HR ± 5% HR	6 meses
Acelerado	40 °C ± 2°C/75% HR ± 5% HR	6 meses

HR: humedad relativa.

T07

Tabla 7.
Condiciones para ensayos de estabilidad de medicamentos refrigerados.

Estudio	Condición de almacenamiento	Duración mínima
A largo plazo	5 °C ± 3 °C	12 meses
Acelerado	25 °C ± 2 °C/60% HR ± 5% HR	6 meses

HR: humedad relativa.

T08

Estudio	Condición de almacenamiento	Duración mínima
A largo plazo	-15 °C ± 5 °C/sin humedad	12 meses
Acelerado	5 °C ± 3 °C/sin humedad	6 meses

Tabla 8. Condiciones para ensayos de estabilidad de medicamentos congelados.

T09

Parámetro	Descripción
Condiciones de almacenamiento	<ul style="list-style-type: none"> - Un medicamento debe evaluarse en condiciones de almacenamiento (con las tolerancias adecuadas) que comprueben su estabilidad térmica y, si procede, su sensibilidad a la humedad (HR) o la posible pérdida de disolventes. - Las condiciones de almacenamiento y la duración de los estudios elegidos deben ser suficientes para cubrir el almacenamiento y el uso posterior. - En el desarrollo de un estudio de estabilidad, es el investigador el que debe de fijar las condiciones de almacenamiento de la formulación a estudiar, en función de las necesidades que tenga, generalmente de acuerdo a las recomendaciones de las guías ICH.
Formulación de estudio	<ul style="list-style-type: none"> - La formulación a estudiar, es decir, la preparación y el envase seleccionado, deben ser validados. - Al planificar un estudio de estabilidad, se asume como condición previa que se ha consultado la bibliografía disponible para establecer que la formulación no contiene incompatibilidades conocidas y que no hay interacciones conocidas entre el contenido y el envase, por ello, se deben tener muy bien caracterizados previamente todos los componentes de la formulación (naturaleza y origen) y también del envase en cuestión. - Si no hay datos disponibles, han de realizarse estudios preliminares.

Tabla 9. Parámetros y condiciones básicas en el desarrollo de estudios de estabilidad de medicamentos.

(Continúa)

Aspectos básicos en el desarrollo de estudios de estabilidad de medicamentos y su aplicación en los servicios de farmacia

Formulación de estudio	<ul style="list-style-type: none">- Los estudios de estabilidad tienen que realizarse preferentemente en un solo lote de fabricación, a fin de evitar la introducción de variabilidad derivada del proceso de fabricación.- El lote de prueba debe incluir al menos tres unidades, para obtener un mínimo de tres mediciones independientes.- Las unidades han de prepararse en condiciones que reflejen las circunstancias en las que se vaya a utilizar el producto, con los mismos volúmenes, y es preferible crear una unidad de preparación por punto de tiempo de muestreo.- Si no es posible utilizar unidades diferentes para cada punto de muestreo (por ejemplo, en el caso de un medicamento de elevado coste), se puede utilizar una unidad para todos los puntos temporales de muestreo, pero debe limitarse el volumen máximo de las muestras para no modificar en exceso la superficie de contacto entre el contenido y el recipiente.- Es posible que en los muestreos múltiples se produzca un fallo de sellado en el recipiente y que ello repercuta negativamente en la estabilidad del preparado, generalmente por contaminación microbiológica, lo que podría alterar las propiedades de la formulación. Las pruebas deben repetirse entonces tres veces, en preparaciones de diferentes lotes.
Duración del estudio	<ul style="list-style-type: none">- Se recomienda realizar estudios en tiempo real, limitando el periodo de almacenamiento a un año, para mantenerse dentro de los límites aceptables con respecto a las prácticas hospitalarias normales. Una buena estrategia sería realizar los estudios de 3, 6, 9 o 12 meses, según el alcance y las necesidades sobre la formulación en cuestión.
Límite de estabilidad	<ul style="list-style-type: none">- Se acepta que el límite de estabilidad de una formulación dada se establece cuando no hay cambios en la cuantificación del principio activo superiores al 10% con respecto a la cantidad nominal o declarada a T₀, o lo que es lo mismo, la concentración de principio activo se mantiene por encima del 90% con respecto a la cantidad nominal o declarada a T₀, aunque esto puede variar según las fuentes que consultemos.- Una aproximación válida podría ser tomar como referencia la monografía por especialidad farmacéutica concreta de la farmacopea que más se aproxime a nuestra formulación de estudio, generalmente, tanto en la <i>United States Pharmacopeia</i> como en la <i>British Pharmacopeia</i>, suelen describir los límites inferiores y superiores en porcentaje con respecto a la cantidad nominal que deben cumplir las formulaciones para ser aceptadas como válidas.

HR: humedad relativa; ICH: Conferencia Internacional de Armonización; T₀: tiempo inicial.

6. Bibliografía

1. European Medicines Agency. Stability testing of new drug substances and products: ICH Topic Q1A(R2). International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. EMA; 2003.
2. United States Pharmacopeia. Chapter <1191> Stability considerations in dispensing practice. 40ª ed. Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention; 2017.
3. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use Official. [Internet]. ICH. [Citado 25 Ago 2022]. Disponible en: <https://ich.org/page/quality-guidelines>
4. French Society of Clinical Pharmacy (SFPC), Evaluation and Research Group on Protection in Controlled Atmospher (GERPAC). *Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations*. Part 1: liquid preparations. GERPAC; 2013.
5. NHS Pharmaceutical Quality Assurance Committee. *A Standard Protocol for Deriving and Assessment of Stability. Part 1 – Aseptic Preparations (Small Molecules)*. 5ª ed. NHS; 2019. [Citado 25 Ago 2022]. Disponible en: <https://www.sps.nhs.uk/wp-content/uploads/2013/12/Stability-part-1-small-molecules-5th-Ed-Sept-19.pdf>
6. Bakshi M, Singh S. Development of validated stability-indicating assay methods--critical review. *J Pharm Biomed Anal*. 2002;28(6):1011-40.
7. Sengupta P, Chatterjee B, Tekade RK. Current regulatory requirements and practical approaches for stability analysis of pharmaceutical products: A comprehensive review. *Int J Pharm*. 2018;543(1-2):328-44.
8. Bansal R, Saini B, Bansal Y, Bansal G. MS(n) , LC-MS-TOF and LC-PDA studies for identification of new degradation impurities of bupropion. *Biomed Chromatogr*. 2013;27(11):1387-97.
9. Trawiński J, Skibiński R. Studies on photodegradation process of psychotropic drugs: a review. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017;24(2):1152-99.
10. Singh S, Handa T, Narayanam M, Sahu A, Junwal M, Shah RP. A critical review on the use of modern sophisticated hyphenated tools in the characterization of impurities and degradation products. *J Pharm Biomed Anal*. 2012;69:148-73.
11. Skibiński R. A study of photodegradation of quetiapine by the use of LC-MS/MS method. *Open Chem*. 2012;10(1):232-40.
12. Skibiński R, Komsta Ł, Ingot T. Characterization of paliperidone photodegradation products by LC-Q-TOF multistage mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2016;30(6):894-901.
13. Talluri MVNK, Kandimalla NR, Bandu R, Chundi D, Marupaka R, Srinivas R. Selective separation, detection of zotepine and mass spectral characterization of degradants by LC-MS/MS/QTOF. *J Pharm Anal*. 2014;4(2):107-16.
14. Association of South East Asian Nation. ASEAN Guideline on Stability of Drug Product. [Internet]. En: 9º ACCSQ-PPWG Meeting. Philippines, 21-24 Feb 2005. ASEAN; 2005. Disponible en: <https://www.fda.gov>.

ph/wp-content/uploads/2021/03/ASEAN-Guidelines-on-Stability-of-Drug-Product-February-2005.pdf

Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention; 2017.

15. United States Pharmacopeia. Chapter <62> Microbiological examination of nonsterile products: tests for specified microorganisms. 40^a ed. Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention; 2017.
16. United States Pharmacopeia. Chapter <1111> Microbiological examination of nonsterile products: acceptance criteria for pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use. 40^a ed.
17. United States Pharmacopeia. Chapter <61> Microbiological examination of nonsterile products-microbial enumeration tests. 40^a ed. Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention; 2017.
18. United States Pharmacopeia. Chapter <71> Sterility tests. 40^a ed. Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention; 2017.



Bayer Hispania, S.L.

Avda. Baix Llobregat 3-5
08970 Sant Joan Despí
Barcelona, Spain