

# **Dissolucao**

## **Validacao de Metodos de Dissolucao**

**Margareth R. C. Marques, M.Sc., Ph.D.**  
**Principal Scientific Liaison**

- ▶ **<1092> The dissolution procedure:  
development and validation**

# Validação



- ▶ Amostragem automática ou semi-automática
- ▶ Seleção de filtros e âncoras
- ▶ Desaeração
- ▶ Especificidade - interferência dos excipientes
- ▶ Faixa de linearidade
- ▶ Exatidão/Recuperação
- ▶ Precisão
- ▶ Robustez
- ▶ Estabilidade das soluções

# Amostragem

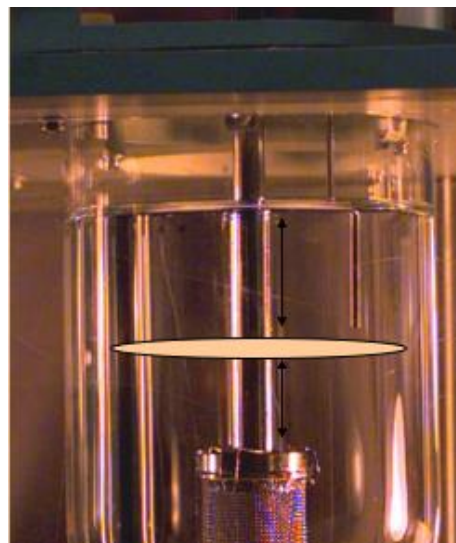


## Manual

- seringas plásticas ou de vidro
- cânula de aço inox
- filtro
- suporte para filtro



- ▶ **Ponto de amostragem - <711>**
- ▶ Amostragem através do cesto ou da haste tem que ser validado



## Manual x Automática

- ▶ contaminação cruzada
- ▶ adsorção do fármaco
- ▶ efeito da presença de sonda de amostragem
- ▶ ciclos de limpeza e enxague

# Amostragem manual x automática - Exemplo



- ▶ Resultados de dissolução **não são** altamente variáveis (RSD < 20% a 10 min, RSD < 10% nos outros tempos)
  - Dois testes de dissolução (n = 6, cada). Um com amostragem manual e o outro com automática
  - Fazer perfil de dissolucao
  - Correção do volume nos cálculos
  - Comparação dos resultados através dos critérios de Precisão Intermediária

# Amostragem manual x automática - Exemplo



- ▶ Resultados de dissolução **são** altamente variáveis (RSD > 20% a 10 min, RSD > 10% nos outros tempos)
  - Amostragem simultânea da mesma cuba a cada ponto do perfil de dissolução
  - Fazer perfil de dissolucao
  - Correção do volume nos cálculos
  - Comparação dos resultados através dos critérios de Precisão Intermediária



# Seleção do filtro



- ▶ Interromper a dissolução
- ▶ Remover excipientes insolúveis
- ▶ Deve ser pré umedecido com o meio de dissolução
- ▶ 0,45  $\mu\text{m}$  a 70  $\mu\text{m}$
- ▶ Adsorção do fármaco deve ser avaliada

# Filtros - Exemplo



- ▶ Solução padrão a 100% filtrada comparada com solução padrão não filtrada
- ▶ Solução da amostra (cuba de dissolução ou béquer) filtrada comparada com solução centrifugada
- ▶ Resultados devem estar entre 98% e 102% da concentração original das soluções não filtradas

# Filtros - Exemplo



## Effect of Filtration on Dissolution Solutions for coated Tablets

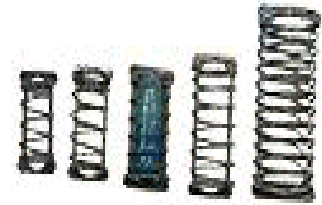
Film-

Solution number	Recovery of (%)	
	Non filtered	Filtered
7	100.0	101.1
8	100.1	102.2
9	101.3	101.1
10	100.2	101.5
11	100.1	101.4
12	99.9	100.8
Mean %	100.3	101.4
RSD %	0.5	0.5

# Uso de âncoras



- ▶ Descrição do tipo utilizado
- ▶ Justificativa para utilização
- ▶ Comparação com diferentes tipos, teste com cada um
- ▶ Habilidade em manter a forma farmacêutica no fundo do copo
- ▶ Grande influência no perfil de dissolução
- ▶ Caso a caso
- ▶ Transferência de método



# Desaeração



- ▶ Verificação da necessidade de desaerar ou não o meio de dissolução.
- ▶ Comparação dos resultados com meio desaerado e não desaerado.



# Especificidade - Influência dos excipientes - Exemplo



- ▶ Placebo: todos os excipientes incluindo revestimentos
- ▶ 3 amostras de cada mistura placebo, equivalentes às doses maior e menor
- ▶ adição dos revestimentos, pigmentos e âncora, cápsula de gelatina, etc
- ▶ Transferir para a cuba contendo meio de dissolução a 37°C
- ▶ Agitar por 30 a 60 min a 150 rpm utilizando o aparelho descrito no método

# Especificidade - Influência dos excipientes - Exemplo



- ▶ Comparação com solução padrão equivalente a 100% da dose
- ▶ Calcular a porcentagem de interferência para cada dose (média de 3)
- ▶ Interferência não deve ser maior que 2%.

# Especificidade - Influência dos excipientes



## Produtos com liberação modificada

- ▶ Uso de placebo ao invés de mistura de excipientes
- ▶ Placebo mesmo mecanismo de liberação que o produto
- ▶ Interferência determinada a cada tempo de amostragem no perfil de dissolução



# Especificidade - Influência dos excipientes



- ▶ Se a interferência dos excipientes excede 2%
  - comprimentos de onda alternativos
  - método analítico alternativo
  - uso de espectrofotometria com segunda derivada
  - fator de correção
  - Inativação do interferente

## Doseamento por HPLC

- ▶ presença de picos eluindo no mesmo tempo que o fármaco
- ▶ presença de picos estranhos - injete solução padrão e compare tempos de retenção
- ▶ Tempos de retenção muito próximos, contamine a solução do placebo com o fármaco

# Especificidade



## Doseamento por HPLC

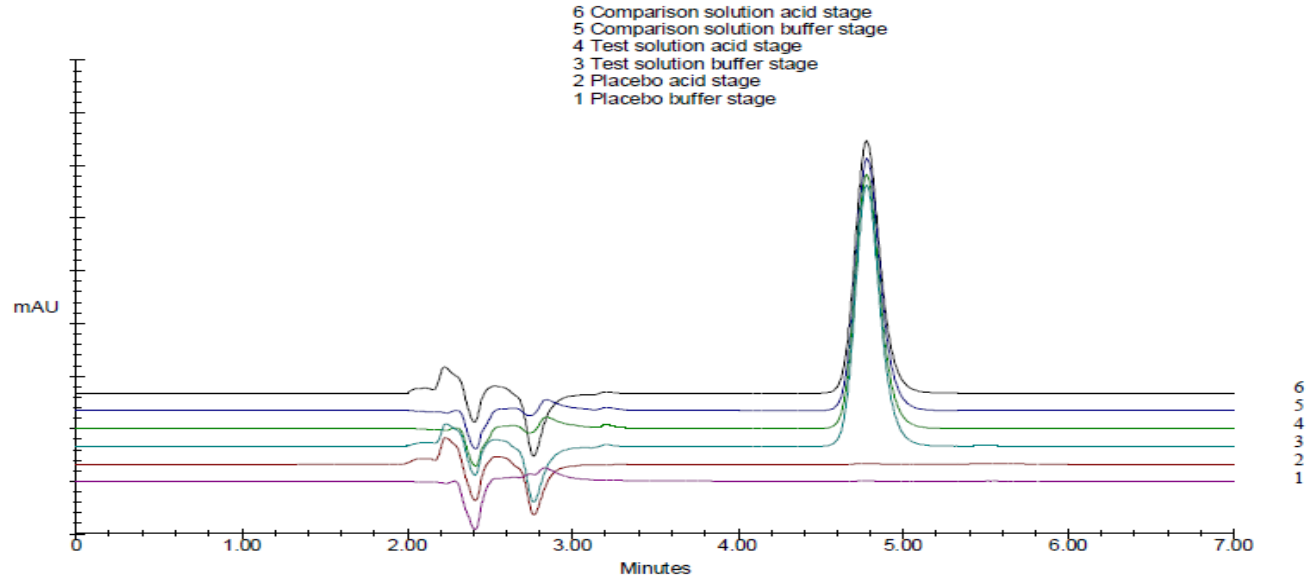
- ▶ Correr o cromatograma com o branco (meio de dissolução), solução padrão e solução da amostra por um certo período de tempo para verificar presença de picos que eluem mais tarde.
- ▶ Cromatogramas de meio de dissolução, solução do placebo filtrada, solução padrão, amostra de dissolução filtrada.

# Especificidade



- ▶ Ausência de picos interferentes no cromatograma do placebo
- ▶ Ausência de absorvância do placebo no comprimento de onda do teste.

# Especificidade



**Specificity of  
of**

**Analysis for Dissolution: Chromatograms  
and Analytical Placebo**

# Faixa de Linearidade



- ▶ Máximo 5% (v/v) de solvente orgânico para aumentar a solubilidade do padrão nas soluções
- ▶ Cinco soluções padrão variando de  $\pm 20\%$  da dose menor até  $\pm 20\%$  da dose mais alta que será liberada durante o teste.
- ▶ Leituras no mínimo em duplicata
- ▶ Maior concentração não deve exceder os limites de linearidade do equipamento.

# Faixa de linearidade



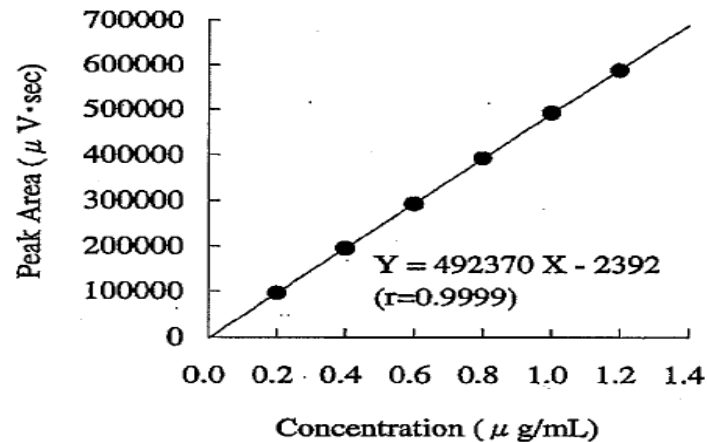
- ▶ Cálculos utilizando programa de regressão linear de quadrados mínimos.
- ▶  $r^2 \geq 0.98$
- ▶ Intercessão de y deve ser significativamente diferente de zero com 95% de limite de confiança

# Linearidade - Exemplo



Table 3. Calibration Curve of for Capsules 1mg

Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Peak Area ( $\mu\text{V}\cdot\text{sec.}$ )
0.200	96005
0.400	194356
0.599	291948
0.799	391674
0.999	491114
1.199	586535



Capsules com 1 mg

Faixa de linearidade: 0,2 – 1,2  $\mu\text{g/mL}$  (25% - 150% no perfil)

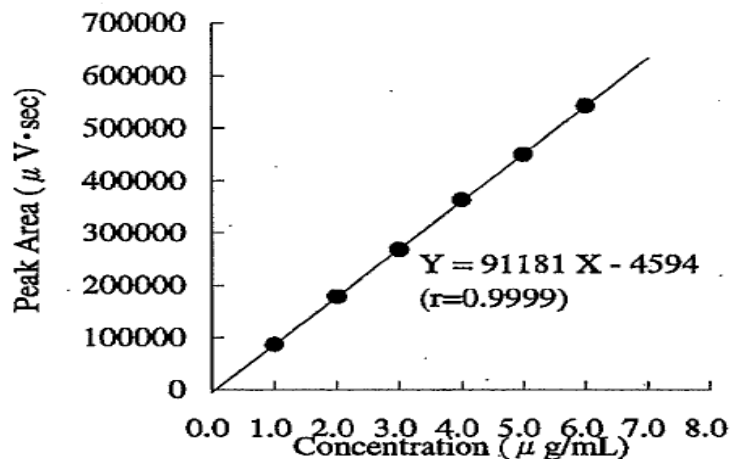


# Linearidade - Exemplo



Table 4. Calibration Curve of for Capsules 5 mg

Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Peak Area ( $\mu\text{V}\cdot\text{sec.}$ )
1.00	86743
2.00	177505
3.00	267745
4.00	362789
4.99	448987
5.99	541649



Capsules com 5 mg

Faixa de linearidade: 1 – 6  $\mu\text{g/mL}$  (25% - 150% no perfil)

# Exatidão / Recuperação



- ▶ Em geral  $\pm 20\%$  da concentração mais baixa até  $\pm 20\%$  da concentração mais alta que será liberada durante o teste.
- ▶ Mínimo três níveis de concentração em triplicata.
- ▶ Incluir cápsula de gelatina, revestimentos, pigmentos, âncora, etc.
- ▶ Quantidade de placebo a cada nível deve ser a mesma que o total de excipientes da dose em análise.

# Exatidão / Recuperação



- ▶ Equipamentos 1 e 2 - testar a mistura de excipientes e fármaco nas condições especificadas no método.
- ▶ Fármacos com baixa solubilidade - solução estoque - fármaco dissolvido em solvente orgânico (máx 5% vol final), volume completado com meio de dissolução.
- ▶ Solução estoque diluída ou transferida para a cuba.
- ▶ Recuperação 95% a 105% das quantidades pesadas.

# Exatidão / Recuperação - Exemplo



- ▶ Capsulas contendo 1 mg e 5 mg de farmaco
  - Amostras
    - uma capsula vazia e placebo em po correspondendo a uma capsula.
    - 1 mL do farmaco em acetonitrila, concentracoes correspondendo a 30%, 70%, 100% e 120% do teor declarado no rotulo
    - 899 mL de meio de dissolucao

# Exatidão / Recuperação - Exemplo



Table 8. Recovery test (accuracy and repeatability)

Capsules	Amount added	Repetition	Recovery (%)	
				Average
1 mg	30 %	1	99.4	99.4
		2	98.9	
		3	99.8	
	70 %	1	101.2	101.5
		2	101.3	
		3	101.9	
	100 %	1	101.6	102.0
		2	102.5	
		3	102.0	
	120 %	1	101.9	101.9
		2	102.1	
		3	101.7	
5mg	30%	1	98.5	99.3
		2	100.1	
		3	99.3	
	70%	1	100.8	100.9
		2	101.1	
		3	100.8	
	100 %	1	100.1	99.8
		2	99.8	
		3	99.6	
	120 %	1	99.6	99.1
		2	99.8	
		3	98.0	

# Exatidão / Recuperação - Exemplo



Accuracy Data for Dissolution of			Film-coated Tablets
Solution Number	Stage	Measured Response	Recovery, %
1	Buffer pH 6.8	9461030	99.2
2	Buffer pH 6.8	9431685	98.9
3	Buffer pH 6.8	46759475	102.7
4	Buffer pH 6.8	46851959	102.9
5	Buffer pH 6.8	114279373	100.4
6	Buffer pH 6.8	114617064	100.7
7	Buffer pH 6.8	227450246	100.0
8	Buffer pH 6.8	227783762	100.1
9	Buffer pH 6.8	230456885	101.3
10	Acid stage	228104283	100.2
11	Acid stage	227773082	100.1
12	Acid stage	227258730	99.9
14	Buffer stage	227639659	100.1
		228353103	
		227913456	
		227707625	
		227392603	
Comparison Solution (standard)			
Solution Number	Measured Response	Statistics	
13	227574066	Mean, n=5: 227553992, RSD: 0.24%	
	227784561		
	228336728		
	227032170		
	227042435		

## Repetibilidade

- ▶ réplicas das solução padrão
- ▶ cálculo do desvio padrão relativo

## Precisão intermediária

- ▶ efeito de eventos aleatórios na precisão do método
- ▶ determinada dentro da faixa de linearidade das dosagens do produto
- ▶ no mínimo 2 analistas em diferentes dias
- ▶ uso de lote bem caracterizado, faixa estreita de uniformidade da dose



# Precisão intermediária



- ▶ Perfil de dissolução da mesma amostra em duplicata
- ▶ Determinado por no mínimo dois analistas
- ▶ Cada analista preparando suas próprias solução padrão e meio
- ▶ Diferente equipamentos
- ▶ Diferente dias

# Precisão intermediária



- ▶ Diferença no valor médio obtido por um analista em relação ao outro analista não é maior que 10% (absoluto) nos tempos com dissolução menor que 85%
- ▶ Diferença máxima de 5% para os tempos com dissolução acima de 85%
- ▶ Critério de aceitação pode ser específico do produto

# Precisão intermediária



## Intermediate Precision Results for Dissolution of coated Tablets

Film-

Tablet	Laboratory 1		Laboratory 2	
	% Dissolved		% Dissolved	
	240 min.	600 min.	240 min.	600 min.
1	76.9	94.1	80.9	95.9
2	73.9	93.7	81.3	96.0
3	75.9	94.9	81.0	97.4
4	73.1	94.8	81.1	94.8
5	76.9	96.3	78.5	93.0
6	78.5	93.4	80.0	95.6
Mean	75.9	94.5	80.5	95.4
RSD	2.0	1.1	1.1	1.5
Acceptance criteria	62–82	≤ 85	62–82	≤ 85

# Robustez



- ▶ **Avalia o impacto de pequenas e deliberadas modificações das condições de dissolução**
  - Concentração do meio
  - pH do meio
  - Método quantitativo

# Estabilidade das soluções



## Solução padrão

- ▶ Analisada durante um período específico de tempo
- ▶ Comparação com solução recém preparada a cada intervalo de tempo
- ▶ Resultados entre 98 e 102% do valor teórico

# Estabilidade das soluções



## Solução da amostra

- ▶ Armazenada a temperatura ambiente
- ▶ Analisada durante um período específico de tempo
- ▶ Comparação com o resultado inicial
- ▶ Resultados entre 98% e 102% do valor inicial

# Estabilidade das soluções



- ▶ Caso necessário, o método deve indicar, no texto, prazo de validade das soluções.
- ▶ Verificada utilizando outros métodos analíticos (HPLC, UV/Vis).

# Estabilidade das soluções - Exemplo



Table 6. Stability of standard and sample solution (25°C)

Samples		Residual percentage (%)*		
		Initial	24 hr	48 hr
Standard solution	1 mg	100	102.0	99.5
	5 mg	100	99.9	98.5
Sample solution	1 mg	100	102.7	100.0
	5 mg	100	101.0	100.0

\*: Residual percentage (%) for the standard solution is expressed as percentage to the assay result at 6 hours after preparation, while residual percentage (%) for the sample solution is expressed as percentage to the assay result at 1 hour after preparation.

Table 7. Stability of in dissolved solution (37°C room temperature)

		Residual percentage (%)*					
		1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	5 hr	6 hr
Dissolved solution	1 mg	100	99.7	99.5	99.7	100.1	100.1
	5 mg	100	99.9	99.7	99.8	99.3	98.8

\*: Residual percentage (%) for the dissolved solution is expressed as percentage to the assay result at 1 hour after preparation.